

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun–Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et la Vie

Département des Sciences de la Nature et la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Ecologie et environnement

Spécialité : Ecologie Fondamentale et Appliquée

Présenté par :

M^{lle} AIT AMER MEZIANE CHANEZ

M^{lle} ZEGAI HANANE

Thème

Evaluation de quelques paramètres biochimiques chez le rat *Wistar* exposé à un polluant environnementale et sous régime hypergras

Soutenu publiquement le 04/ 07/ 2019

Jury :

Grade

Président : Mme Oulbachir. K

MCA Univ Ibn Khaldoun. Tiaret

Encadreur : Mme Boudali. S

MAA Univ Ibn Khaldoun.Tiaret

Co-encadreur : Mme Benaraba. R

MCA Univ Ibn Khaldoun. Tiaret

Examineur 1 : Mr Hemida. H

MCA Univ Ibn Khaldoun. Tiaret

Année universitaire 2018 - 2019

Remerciement

Avant tout, louange à ALLAH tout puissant de nous avoir donné le courage de persister dans l'accomplissement de ce modeste travail, ainsi que de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nos grands remerciements, toute notre gratitude et notre reconnaissance :

A Mme **BOUDALI SOUAD** qui nous a fait l'honneur d'encadrer et de diriger ce travail depuis les premiers instants, ainsi que son précieux soutien et la confiance qu'elle nous a accordé.

Au Docteur **BENARABA RACHIDA**, qui nous a fait l'honneur d'être la Co-promotrice de ce projet, pour ses extraordinaires aides, ses conseils et ses orientations. Par le partage de sa vision de la recherche et connaissances scientifiques ayant largement contribué à la réalisation de cette étude. Nous lui exprimons notre profond respect.

A Madame **OULBACHIR K**, enseignante à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université Ibn Khaldoun de Tiaret pour l'attention qu'elle a bien voulu porter à ce travail en acceptant de le juger et de présider le jury de la soutenance de ce mémoire.

A Monsieur **HEMIDA H**, enseignant à l'institut des Sciences Vétérinaires de l'Université Ibn Khaldoun de Tiaret, pour l'honneur qu'il nous a fait, d'accepter et d'évaluer ce travail.

A Monsieur **HEMIDA HOUARI**, Madame **BOUMEZRA ASSIA**, Madame **RAHAI**, Madame **CHIKHAOUI** de l'institut des sciences vétérinaires de l'Université Ibn Khaldoun pour leurs générosité, leur soutiens et surtout pour leur disponibilité.

A Madame **FATIHA**, pour son aide et ses encouragements. Nous la remercions pour ses conseils.

A **NOURA** et **HALIMA** pour leurs précieux conseils, aide et surtout leur amitié.

Nos remerciements et nos reconnaissances vont également à tous les enseignants et tous les responsables de la faculté de sciences de la nature et la vie de L'Université Ibn Khaldoun de Tiaret.

Enfin notre gratitude à tous ceux qui ont partagés avec nous les moments difficiles de la réalisation de ce modeste travail et ceux qui nous ont encouragé :

Nos parents - nos frères et sœurs pour leur soutien indéfectible.

Dédicace

A la mémoire de ma très chère Yaya Dhaouia

A mon très cher Vava Abderrahmane

A mes très chers parents

Secret de ma force et lanterne de ma vie

A mes sœurs Syla, Lydia et mon frère Hocine

A mes chères tantes

A mes cousines et cousins

A ma précieuse famille

« AIT AMER MEZIANE et MEDJBER »

A ma chère amie et Binôme Hamama

A mes remarquables enseignants et professeurs

De mon parcours scolaire et universitaire

A tous mes proches et amis

A tous ceux qui m'ont soutenu

AIT AMER MEZIANE CHANEZ

Dédicace

Du profond de mon cœur, je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers

A ma chère mère

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices qu'elle m'a consenti pour mon instruction et mon bien être

Je dédie ce travail

A la mémoire de mon père qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études et pour être sur le bon chemin

A toute la famille «ZEGAI».

A mes frères «Zakï et Hamza». A mes chères sœur «Djamila et Khalida».

A mon binôme Chanez. A tous les moments qu'on a passés ensemble. A notre belle amitiés, je vous souhaite tout le bonheur et la réussite dans la vie.

A Toutes mes amies en particulier Lynda, Ryma, Fouzia et Nouriapour les jours et les nuits blanches, nos larmes et nos fous rires, nos déceptions et nos éclats de joie..

A mes chères collègues Kader et Taher pour leur soutien

Et une dédicace particulière à un être qui m'est très cher une personne qui m'a toujours soutenu qui m'a toujours poussé en avant un grand merci à monsieur Sidali

A tous mes enseignants chacun par son nom

A tous ceux qui m'aiment de près ou de loin

ZEGAI Hanane

Table de matières

Liste des abréviations	I
Liste des annexes	II
Liste des figures	III
Liste des tableaux	IV
Introduction	V
Chapitre 1 : Synthèse bibliographique	
1.1 Pollution environnementale et émergence des perturbateurs endocriniens	4
1.2 Perturbateurs endocriniens cibles et mécanisme d'action.....	5
1.3 Exposition aux perturbateurs endocriniens : Ce n'est pas la dose qui fait le poison	7
1.4 Perturbateurs endocriniens : des véritables Obésogènes et diabétogènes.....	8
Chapitre 2 : Matériel et Méthodes	
2.1 Objectifs.....	11
2.2 Lieu et durée de travail.....	11
2.3 Matériel et produits chimiques.....	12
2.4 Hébergement, traitement et suivi des animaux :	13
2.5 Choix de la dose et de la voie d'administration	16
2.6 Stratégie d'exposition au bisphénol A et au tébuconazole	16
2.7 Composition des régimes expérimentaux	16
2.8 Prélèvements et préparation du matériel biologique.....	17
2.8.1 Prélèvement sanguin	17
2.8.2 Prélèvement d'organes.....	18
2.9 Etudes des paramètres biochimiques	18
2.9.1 Détermination de la teneur en glucose	18
2.9.2 Détermination des teneurs en urée	19
2.9.3 Détermination des teneurs en cholestérol total	19
2.10 Etude des paramètres oxydatifs.....	20

Table de matières

2.10.1 Evaluation de la peroxydation lipidique par le dosage des substances réagissantes avec l'acide thiobarbiturique (TBARS)	20
2.10.2 Détermination du pouvoir antioxydant total par la technique FRAP « Ferric Reducing Antioxydant Power »	21
2.10.3 Oxydation des Protéines dosage des groupements Thiols (Faure et Lafond.,1995)	22
2.11 Traitement statistique	23
Chapitre 3 : Résultats et Discussion	
3.1 Impact de l'exposition aux polluants et du régime hypergras sur le tissu adipeux et l'apport énergétique	25
3.2 Impact de l'exposition aux polluants et du régime hypergras sur les teneurs plasmatiques en cholestérol, glycémie et en urée	30
3.3 Impact de l'exposition aux polluants et du régime hypergras sur les paramètres oxydatifs au niveau plasmatique.....	32
3.3.1 Evaluation de la peroxydation lipidique	32
3.3.2 Evaluation du pouvoir réducteur total au niveau plasmatique	33
3.3.3 Evaluation de l'oxydation protéique au niveau plasmatique	34
Conclusion et perspectives.....	38
Références bibliographiques	41
Annexes.....	52
Résumé	

Liste des abréviations

AGOI n-6 : Acide gras oléanique insaturé n-6

AGS : Acide gras saturé

AhR : *Aryl hydrocarbon Receptor*

ALAT : Alanine aminotransférase

ASAT : Aspartate aminotransférase

BHT : 2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol

BPA : 2,2-Bis (4-hydroxyphenyl) propane* 4,4'-Isopropylidenediphenol

DDT : Dichlorodiphényl Trichloroétane

DES : Diéthylstilbestrol

DJA : Dose journalière acceptable

DT2 : Diabète type deux

DTNB : 5-5dithionitrobenzoicacid

EDC: Endocrine Disrupting Compound

EDTA : Acide ethylénediamine-TétraAcétique

Er α : *Estrogen receptors α*

Er β : *Estrogen receptors β*

FeCl $_3$: Chlorure de fer

FeSO $_4$: Sulfate de fer

FRAP: Ferric Reducing Ability Plasma

GPR30: G protein-coupled receptor for estrogen

Liste des abréviations

- KH₂PO₄** : Phosphate de potassium monobasique
- HAP** : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
- HCl** : Chlorure d'hydrogène
- HCTT116** : Cellules tumorale humaine du colon
- HDL** : *High Density Lipoprotein*
- HG** : Hypergras
- IMC** : Indice de masse corporelle
- K₂HPO₄** : Phosphate de potassium dibasique tri hydrate
- LDL** : *Low Density Lipoprotein*
- MDA** : Malondialdéhydes
- MSC** : Cellules souches mésenchymateuses
- NAC** : N-acetyl- L cystéine
- NaCl** : Chlorure de sodium
- OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- PCB** : Polychlorobiphényles
- PE** : Perturbateurs endocrinien
- PEE** : Perturbateur endocrinien environnemental
- PM_{2,5}** : Particules ultra fines (diamètre inférieur à 2,5 µm)
- PPAR γ** : Récepteur nucléaire majeur de l'adipogénèse
- PVC** : Polychlorure de vinyle
- RXR** : Rétinoïde X récepteur
- RXR** : Rétinoïde X récepteur
- S-S** : Le pont disulfure

Liste des abréviations

ST : régime standard

TBA : Acide thiobarbiturique

TBARS : *Thiobarbiturique Acide Réactive Substance*

TBT : Tributylétain

TCA : Acide Trichloracétique

TCDD : 2, 3, 7,8-tetrachlorodibenzodioxine

TEB : Tébuconazole

TEP : 1, 1, 3,3 tétraéthoxypropane

TG: Triglycérides

TPTZ : Tripyridyl-s- Triazynes

Annexe I : Répartition des rats femelles *Wistar* au cours de l'expérimentation

Annexe II : Doses du TEB et du BPA ingérés par les rats femelles constituant les différents groupes expérimentaux (TEB, TEBHG ; BPA, BPAHG)

Annexe III : Fiche technique du dosage du glucose kit BIOLABO

Annexe IV : Fiche technique du dosage de l'urée kit BIOLABO

Annexe V : Fiche technique du dosage du cholestérol total kit Biomaghreb

Annexe VI : Courbe de la gamme d'étalonnage du TEP pour l'évaluation de la peroxydation lipidique

Annexe VII : Courbe de la gamme d'étalonnage du FeSO₄ pour l'évaluation du pouvoir réducteur

Annexe VIII : Courbe de la gamme d'étalonnage de la N-Acétyl-Cystéine pour l'évaluation des taux des protéines à groupements SH

Annexe IX : préparation des tampons

Annexe X : Matériel expérimentale

Annexe XI : Impact du traitement sur les organes

Annexe XIII : Impact de l'exposition (TEB ou BPA) sur le comportement des rats femelles

Annexe XIV : Mécanisme d'action du Bisphénol A

Annexe XV : Polluants environnementaux

Liste des figures

Figure n° 01 : Polluants environnementaux et leurs cibles endocrines.	6
Figure n° 02 : Mécanismes d'action possibles des perturbateurs endocriniens sur la machinerie transcriptionnelle.....	7
Figure n° 03 : Protocole du suivi des rates durant l'étude.	14
Figure n° 04 : Organigramme de la procédure expérimentale.....	15
Figure n°05 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)-TPTZ et un antioxydant (AH).	22
Figure n° 06 : Poids absolu du tissu adipeux des rats femelles des 6 lots expérimentaux.....	26
Figure n° 07 : Energie ingérées (kcal/semaine) par les rats femelles des différents groupes pendant les 16 semaines d'expérimentation.	29
Figure n°08 : Effet de l'exposition aux polluants et des régimes expérimentaux sur la peroxydation lipidique (MDA exprimé en $\mu\text{mol/l}$)......	33
Figure n°09 : Effet de l'exposition aux polluants et des régimes expérimentaux sur le pouvoir réducteur total (exprimé en $\mu\text{mol/l}$).	34
Figure n°10 : Effet de l'exposition aux polluants et des régimes expérimentaux sur les marqueurs oxydatifs protéiques (groupements SH plasmatiques exprimés en $\mu\text{mol/l}$).....	35

Liste des tableaux

Tableau n° 01 : Principaux perturbateurs endocriniens qui existent dans quelques produits à utilisation quotidienne.....	4
Tableau n°02 : Matériel, réactifs et produits chimiques utilisés.....	12
Tableau n°03 : Composition des régimes alimentaire	17
Tableau n° 04 : Teneurs plasmatiques en cholestérol, glycémie et en urée chez les rats femelles des différents groupes expérimentaux exposées ou non au BPA ou au TEB.....	30

Introduction

Introduction

Au cours des dernières décennies l'incidence des maladies chroniques tels que le diabète de type 2 (DT2), l'obésité et les maladies cardio-vasculaires ne cessent d'augmenter à travers le monde atteignant un taux sans précédent. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que 2 milliards d'humains seront obèses ou en surpoids en 2030 (**Kelly et al., 2008**). Au début des années 2000, la même organisation avait prédit qu'environ 300 millions de personnes seraient atteintes d'un DT2 à travers le monde en 2030 (**Wild et al., 2004**). On a longtemps considéré qu'une prédisposition génétique au quelle s'ajoute un mode de vie de type sédentaire associé à une suralimentation induisant une balance énergétique positive sont les causes clés prédominantes fortement impliquées dans la genèse de ces pathologies métaboliques (**Arnaud, 2006**).

En effet, une consommation chronique d'un régime hypercalorique contribue énormément au développement d'un cortège de troubles métaboliques telles que l'installation d'une insulino-résistance intimement liée à un stress oxydant et une inflammation de bas grade (**Nalbone et al., 2011**).

Ces troubles sont largement reconnus comme des facteurs de risque du diabète, de l'obésité et des maladies cardiovasculaires. Cependant, ces facteurs n'expliquent pas à eux seuls l'incidence grandissant de ces maladies. Actuellement, d'autres facteurs, essentiellement environnementaux, sont incriminés dans la survenue de ces épidémies et leurs complications. Au banc des accusés, figurent les polluants chimiques de synthèse issus du développement intense de l'activité industrielle, responsables de la dégradation de l'environnement.

Ces myriades de contaminants omni présents, tels que les perturbateurs endocriniens et certains pesticides, ont déjà été mis en cause dans nombreuses maladies non-infectieuses du XXI^e siècle. Toutefois, un bon nombre des premiers travaux sur ces polluants environnementaux se sont focalisés essentiellement sur les effets en matière de reproduction. Cependant, l'hypothèse selon laquelle les contaminants chimiques pourraient être de véritables « obésogènes environnementaux », commence à peine à émerger.

Les recherches actuelles démontrent que ces substances sont capables d'affecter l'homéostasie en matière de poids et perturbent les mécanismes de contrôle de l'adipogenèse et de la balance énergétique (**Chevalier et al., 2017**). Ils induisent ainsi un stress oxydatif exacerbé, pouvant être à l'origine du développement des maladies chroniques parfois mortelles, tels que les cancers. L'ensemble de ces complications, causées par ces polluants chimiques, essentiellement les perturbateurs endocriniens, deviennent une question de santé publique de

Introduction

plus en plus préoccupante. A la lumière de ces données, l'objectif de ce présent travail est d'étudier l'effet de l'interaction polluants environnementaux et régime hypercalorique sur le métabolisme biochimique et sur la balance oxydative. Cette étude s'intéresse particulièrement à une exposition chronique et à des faibles doses, de l'ordre de la DJA, à deux polluants environnementaux le Bisphénol A, un perturbateur endocrinien incontestable et Tébuconazole seul ou associé à un régime riche en graisse.

Chapitre 1

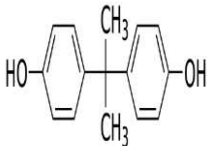
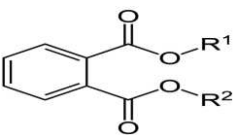
Synthèse bibliographique

Synthèse bibliographique

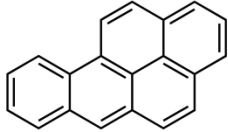
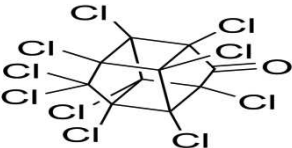
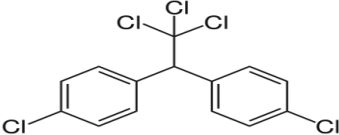
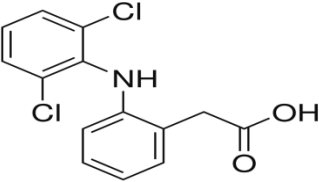
1.1 Pollution environnementale et émergence des perturbateurs endocriniens

Depuis la fin du XIXe siècle, la révolution industrielle s'est accompagnée d'une utilisation croissante, et quasiment ubiquitaire, de produits chimiques, polluants ou non. De ce fait l'homme est exposé quotidiennement à ces polluants indissociables de son mode de vie. Ces derniers, appartiennent à de nombreuses familles chimiques comme les bisphénols, phtalates, alkylphénols, parabènes, polychlorobiphényles, dioxines, polybromés, perfluorés, pesticides et métaux lourds. La détection de ces polluants et de leurs métabolites secondaires dans les urines, le sérum, le sang et le foie humain, a mené au développement de biomarqueurs ce qui a permis de mieux appréhender le mode d'action de ces contaminants chimiques dans l'organisme. Actuellement il est largement démontré que certains de ces polluants sont capables d'interférer avec des systèmes physiologiques et pourraient de ce fait modifier les équilibres hormonaux et métaboliques (**Barouki, 2013**). Et provoquaient ainsi l'apparition d'une multitude d'anomalies métaboliques telles que la résistance à l'insuline, l'inflammation et le stress oxydant. Ces éléments sont considérés comme des facteurs causals de nombreuses pathologies, notamment chroniques comme le diabète le cancer ou de l'obésité (**Savini et al., 2013**). Cette classe de polluants attire particulièrement l'attention car ils sont considérés comme des perturbateurs endocriniens environnementaux vu qu'ils présentent des propriétés hormono-mimétiques et ils sont capables d'interférer avec le système endocrinien et de perturber ainsi les voies de signalisation du métabolisme glucidique et lipidique (**Chevalier et al., 2015**).

Tableau n° 01 : Principaux perturbateurs endocriniens qui existent dans quelques produits à utilisation quotidienne (**Cardenas, 2014**)

Types de substance	Principales activités et objets concernés
Bisphénol A 	- Plastiques : Biberons, films utilisés pour le conditionnement d'aliments, tickets de caisse, billets de banque, cartes de crédit, prothèses dentaires, boîtes de conserve, emballages plastiques, polycarbonate, résine époxy, polychlorure de vinyle (PVC)...
Phtalates 	-Textiles imperméables, détergents, encres, jouets. -Produits cosmétique utilisé comme fixateurs

Synthèse bibliographique

<p>Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) : Benzo(a) pyrène</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Combustion automobile (essence, diesel). - Combustion domestique (fuel, charbon), - Activités industrielle (fabrication d'aluminium, déchetteries), - Incendies de forêts, - Eruptions volcaniques
<p>Chlorodécone</p>  <p>Dichlorodiphényl Trichloroétane</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Activités agricoles (pesticides)
<p>Diclofénac</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Produits pharmaceutiques : Antidépresseurs, antibiotiques, anti-inflammatoires non stéroïdiens

1.2 Perturbateurs endocriniens cibles et mécanisme d'action

Le système endocrinien est un système complexe, qui repose sur le fonctionnement de nombreuses glandes. Chacune d'entre elles sécrète des hormones qui diffusent dans l'organisme par la circulation sanguine et lymphatique. Ce système hormonal est indispensable au maintien de l'ensemble des équilibres biologiques. Actuellement toute substance chimique d'origine naturelle ou artificielle, étrangère à l'organisme, capable d'interférer avec le fonctionnement du système endocrinien, en se liant de manière illicite aux récepteurs membranaires et nucléaires normalement occupés par les hormones naturelles, est considérées comme perturbateurs endocrinien environnemental (PEE ; ou EDC, pour *endocrine-disrupting chemicals*). Cette classe de polluant mime ou perturbe l'action de certaines hormones sur des organes tels que le tissu adipeux, le foie, le pancréas et les muscles squelettiques. Elles entraînent ainsi et à long terme, des effets délétères sur l'individu et/ou sa descendance, qu'il s'agisse de pathologies chroniques

Synthèse bibliographique

du développement, reproduction, de cancers hormono-dépendants ou de pathologies métaboliques (Diamanti-Kandarakis *et al.*, 2009).

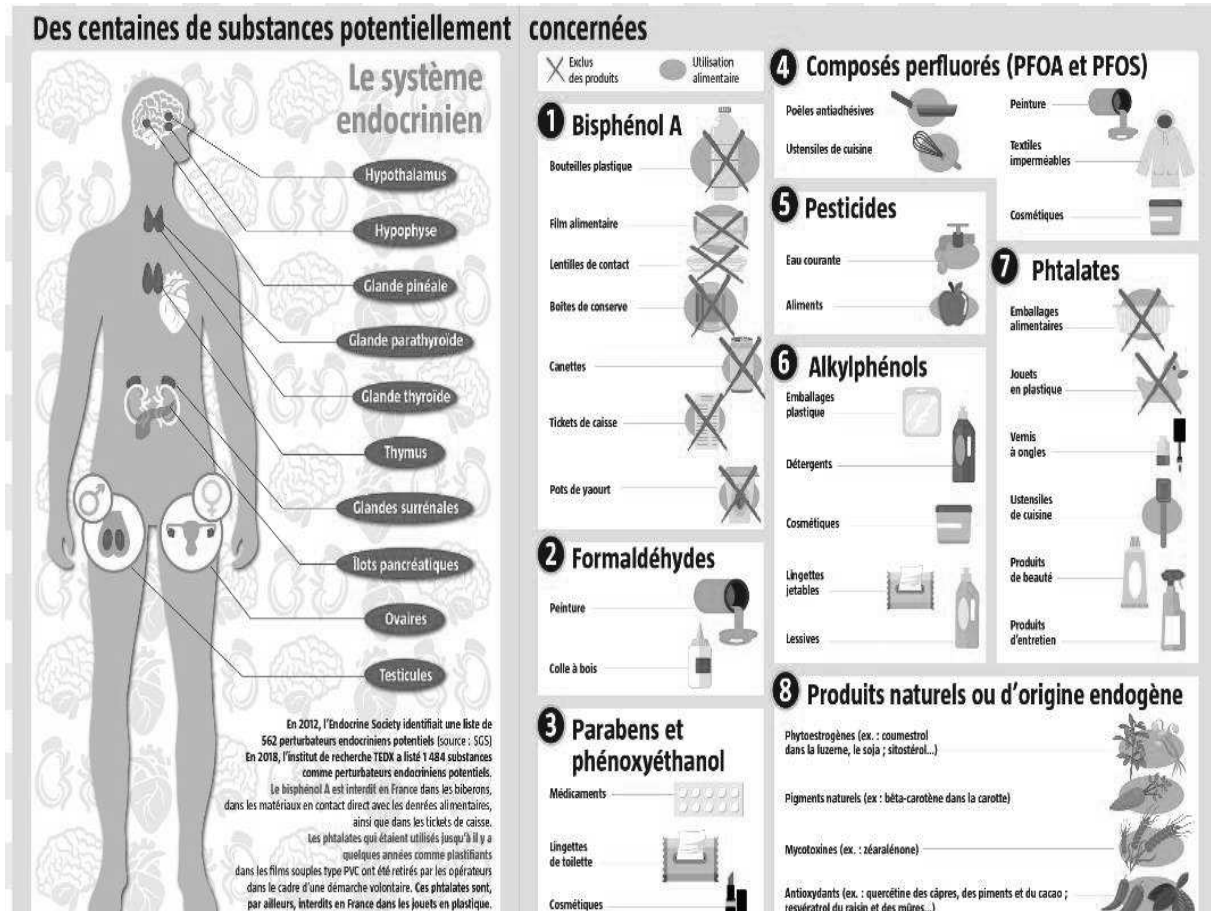


Figure n°01 : Polluants environnementaux et leurs cibles endocrines.

Les cibles de ces PEE sont multiples. Si les premiers effets décrits concernaient essentiellement les gonades, la thyroïde et les surrénales (Mauduit *et al.*, 2006), on sait actuellement que les PEE peuvent interférer avec tous les systèmes endocrines de l'organisme, mais également au niveau du système nerveux central, du système lymphoïde, du système cardiovasculaire et du tube digestif (Diamanti-Kandarakis *et al.*, 2009). Par ailleurs, si la description initiale des PEE impliquait un mode d'action via des récepteurs hormonaux nucléaires aux stéroïdes (estrogènes, progestérone, androgènes, hormones thyroïdiennes et acide rétinoïque), il est reconnu actuellement que les modes d'action sont beaucoup plus complexes et peuvent faire intervenir des récepteurs membranaires, des récepteurs non nucléaires, des récepteurs orphelins (comme AhR [*Aryl hydrocarbon Receptor*] ou GPR30) et différentes voies de signalisation enzymatique (Diamanti-Kandarakis *et al.*, 2009). Ainsi, la perturbation endocrinienne se caractérise non pas par un effet toxique, mais plutôt par une modification du système endocrinien empêchant l'organisme d'interagir convenablement avec l'environnement, et donc susceptible

Synthèse bibliographique

d'entraîner un effet toxique en cas de modification des régulations homéostasiques. Un PE est donc défini *in fine* par un ou plusieurs mécanismes d'action et non pas uniquement par l'effet nocif potentiellement induit ou par ses propriétés physico-chimiques toxicologiques, ce qui explique pourquoi il est très difficile de définir a priori les effets potentiels d'une substance (Diamanti-Kandarakis *et al.*,2009).

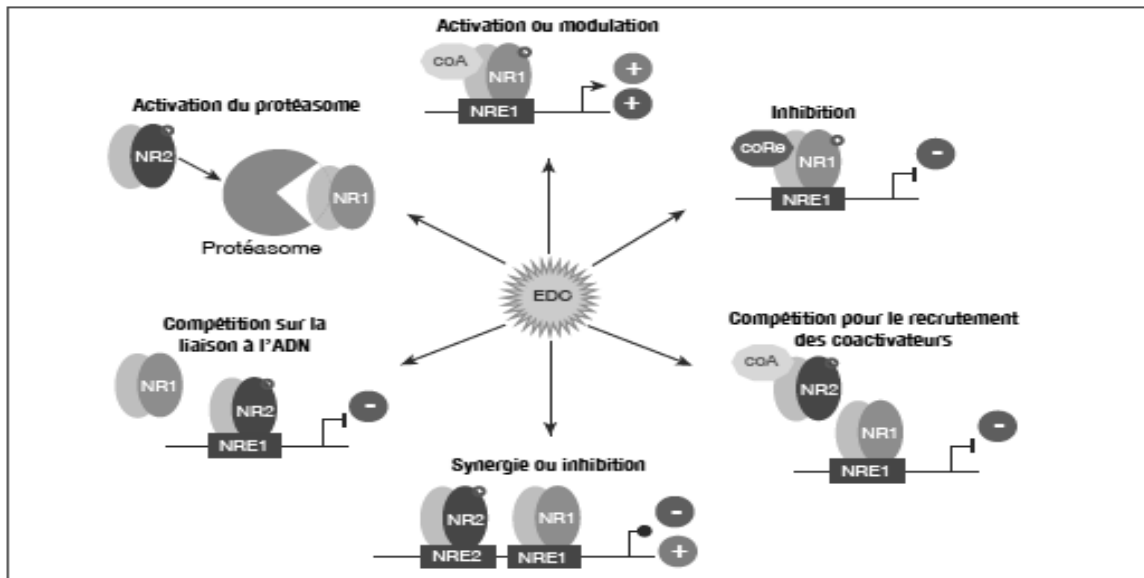


Figure 02 : Mécanismes d'action possibles des perturbateurs endocriniens sur la machinerie transcriptionnelle. NR : récepteur nucléaire ; NRE : élément de réponse spécifique du récepteur nucléaire ; coAct : co-activateur ; coRe : co-répresseur ; EDC : *Endocrine Disrupting Compound* (perturbateur endocrinien), (Chevalier, 2018).

1.3 Exposition aux perturbateurs endocriniens : Ce n'est pas la dose qui fait le poison

Les PEE bouleversent l'approche classique de la toxicologie qui est tel que défini initialement par Paracelse « la dose fait le poison », est celui d'une relation linéaire entre dose et effet Ce qui a conduit à l'utilisation de dose journalière acceptable (ou DJA) qui doit garantir qu'une exposition chronique à un produit toxique est sans effet sur la santé humaine en dessous de ce seuil. Néanmoins, de multiples observations ont rapporté que les PEE étaient capables d'induire des anomalies à de très faibles doses, voire uniquement par leur présence, alors que, paradoxalement, ils peuvent n'avoir qu'un effet faible ou nul à fortes dose. Ce qui est classiquement observé pour les hormones et les neurotransmetteurs (Diamanti-Kandarakis *et al.*, 2009 ; Vandenberg *et al.*, 2009 ; Casals-Casas *et al.*, 2011). Ces données imposent une nouvelle grille de lecture toxicologique qui rend caduque la notion de dose journallement admissible pour ce type de polluants. De ce fait, on distingue trois paramètres majeurs

Synthèse bibliographique

caractérisent le changement de paradigme toxicologique des PE (**Diamanti-Kandarakis *et al.*, 2009**) :

- La période et la durée d'exposition,
- L'impact des faibles doses généralement plus important que celui de doses plus élevées,
- L'effet combiné (cocktail) des PE très complexe à évaluer, consécutif à une imprégnation multiple en polluants.
- La période de latence est grande entre exposition et pathologie, et les effets sont potentiellement transgénérationnels par le biais d'altérations épigénétiques.

En d'autres termes, les altérations épigénétiques induites par différents facteurs environnementaux (polluants, nutrition déséquilibrée, stress, facteurs psychosociaux...) lors des périodes prénatale et postnatale précoce imprimeraient durablement l'expression de certains gènes. Ces modifications pourraient ne se révéler que plus tard dans la vie en fonction de conditions environnementales défavorables (apport énergétique et sédentarité excessifs) prédisposant alors aux troubles métaboliques (**Junien *et al.*, 2005 ; Barouki *et al.*, 2012**).

1.4 Perturbateurs endocriniens : des véritables Obésogènes et diabétogènes

L'obésité est un problème majeur de santé publique car c'est un facteur de risque pour le développement de troubles métaboliques tels que le diabète de type 2, les maladies cardiovasculaires et certains cancers dont l'évolution est pandémique. Ces maladies représentent un défi sociétal pour la santé et la qualité de vie, notamment en raison des conséquences psychologiques importantes et des handicaps physiques liés au surpoids et au diabète. Les maladies métaboliques sont également l'une des principales causes de morbidité et de mortalité. C'est des maladies multifactorielles. Plusieurs facteurs étiologiques ont été identifiés en lien avec les comportements alimentaires, la sédentarité, le manque de sommeil ou des prédispositions génétiques. Mais il a aussi été avancé que les polluants, dont la fabrication exponentielle coïncide avec l'ampleur et la cinétique de progression de l'obésité et de la prévalence du diabète, pourraient constituer de nouveaux facteurs étiologiques et notamment les perturbateurs endocriniens. Ces perturbateurs ont la capacité d'interférer sur la régulation hormonale. En se liant de manière illicite aux récepteurs membranaires et nucléaires normalement occupés par les hormones naturelles, ils miment ou perturbent l'action de certaines hormones sur des organes tels que le tissu adipeux, le foie, le pancréas et les muscles squelettiques. Les mécanismes d'action commencent à peine être élucidés, ils peuvent être liés aux propriétés inflammatoires des polluants organiques perturbateurs. Un certain nombre d'études expérimentales proposent les mécanismes d'action de

Synthèse bibliographique

PEE impliqués dans les désordres métaboliques inducteurs de ces pathologies chroniques. Par exemple il a été montré que l'administration néonatale de diéthylstilbestrol (DES) à des souris provoque une obésité à l'âge adulte et cet effet implique au moins les récepteurs aux oestrogènes puisque le DES se lie avec une très forte affinité à ces récepteurs (**Vargesson, 2009**). Cela illustre bien la complexité des effets de type estrogénique puisque les souris mâles et femelles déficientes en ER α sont également obèses et résistantes à l'insuline. Le tributylétain (TBT) autrefois largement utilisé dans les peintures de coque de navires (biocide empêchant la fixation des organismes aquatiques sur les coques de navires) ou encore le DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane ; utilisé pour lutter contre le paludisme) ont fourni également des exemples clairs d'effets obésogènes. Aussi le TBT qui est capable d'interagir avec le récepteur RXR (*retinoid X récepteur*) et PPAR γ peut modifier la programmation des cellules souches mésenchymateuses (MSC) vers la voie des adipocytes au détriment de la voie des ostéoblastes puis leur différenciation en adipocytes. Chez l'homme, des études ont pu mettre en évidence, après ajustement sur des facteurs de confusion (tabagisme, niveau social, éducation, etc.), un excès de diabète et d'obésité au niveau d'imprégnation de la population générale pour les PCB et pesticides, le BPA, les phtalates ou au niveau d'exposition atmosphérique pour les particules fines (PM_{2,5}). Dans certaines de ces études, un excès de risque de maladies cardiovasculaires est également observé. Un excès de diabète a été également trouvé dans les populations exposées à certains pesticides organochlorés ou organophosphorés. Il est intéressant de noter que des altérations épigénétiques (hypo/hyperméthylation de l'ADN) induites par les polluants décrites chez l'animal sont également observées chez l'Homme (**Nalbone et al., 2013**).

Chapitre 2

Matériel et Méthodes

2.1 Objectifs

2.1.1 Objectif principal

Ce présent travail s'intéresse à évaluer l'effet toxique, à long terme, via une exposition orale, de deux polluants environnementaux le Bisphénol A et Tébuconazole seul ou associé à un régime riche en graisse, et ce vis-à-vis des perturbations biochimiques et oxydatives.

2.1.2 Objectifs secondaires

- Evaluer l'impact d'une exposition chronique, du rat *Wistar*, à deux polluants environnementaux (Bisphénol A et Tébuconazole), à de faibles doses correspondant aux doses journalières tolérables définies chez l'homme.
- Etudier l'effet de l'interaction : perturbateur endocriniens/régime hypergras sur les paramètres oxydatifs et biochimiques
- Déterminer le mode d'action de la toxicité du Tébuconazole à faibles doses, en le comparant à celui du BPA, un perturbateur endocrinien incontestable et le plus répandu dans l'alimentation humaine, et ce dans les mêmes conditions expérimentales.

2.2 Lieu et durée de travail

La démarche expérimentale relative à cette étude a été réalisée sur une période s'étalant du 30 décembre 2018 au 12 juin 2019 et a été effectuée au sein des laboratoires suivants

- Laboratoire d'Amélioration et Valorisation des Productions Animales Locales « Université Ibn Khaldoun -Tiaret».
- Laboratoire d'autopsie clinique de l'Institut des Sciences Vétérinaires, «Université Ibn Khaldoun -Tiaret».
- Laboratoires de biochimie de l'Institut des Sciences Vétérinaires, «Université Ibn Khaldoun -Tiaret».

Matériel et Méthodes

2.3 Matériel et produits chimiques

Le matériel et les produits chimiques nécessaires à l'accomplissement de ce travail sont cités dans le tableau ci-après :

Tableau n°02 : Matériel, réactifs et produits chimiques utilisés

Matériel ; Appareillage	Produits Chimiques
<ul style="list-style-type: none"> -Agitateur magnétique thermique (IKAMAG) - Bain marie (GFL) - Balance analytique (DHAUS PIONEER) - Vortex (TECHNOKARTELL) - Centrifugeuse(SIGMA) -Chronomètre (HUNGHANS) -Micropipettes(Acummax) -pH mètre(Ohaus) -Spectrophotomètre UV-Vis (OPTIZEN 1412V) 	<ul style="list-style-type: none"> - 1, 1,3, 3 Tétrahydroxypropane(TEP) PM=220,3 g/mol) - 2,2-Bis (4-hydroxyphenyl) propane 4,4'-Isopropylidenediphenol Bisphénol A (C₁₅H₁₆O₂) 99% PM=228,2863g/mol (Sigma) - 2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol(BHT) C₁₅H₂₄O PM=220,35 g/mol - 5-5' dithionitrobenzoic acid (DTNB) PM=396,3g/mol - Acétates de sodium (C₂H₃NaO₂) PM=82,03g/mol - Acide acétique glacial (CH₃COOH) PM=60,64g/mol - Acide Ethylénediamine –TétraAcétique (EDTA) C₁₀H₁₆N₂O₈ PM=292,24g/mol - Acide thiobarbiturique (TBA) PM=144,2g/mol - Acide trichloracétique (TCA) CCl₃COOH PM=163,39g/mol - Butanol-1 C₄ H₁₀O PM=74,12g/mol - Chlorure de fer FeCl₃ PM=162,20g/mol - Chlorure d'hydrogène HCL à 36% PM=36,46g/mol - Ethanol absolu C₂H₆O - Ether 99,9 % - N-acetyl- L cystéine (NAC) C₅H₉NO₃S PM=163,2g/mol - Phosphate de potassium monobasique H₂KO₄P⁻ PM=136,09g/mol - Phosphate de potassium dibasique tri hydrate K₂HPO₄ 3H₂O PM=228,23 g/mol - Sulfate de fer (FeSO₄ PM=278,01g/mol - Tripyridyl-s-Triazine C₈ H₁₀ (TPTZ) PM=312,33g/mol - Tébuconazole C₁₆H₂₂ClN₃O PM=307,8 g/mol

2.4 Hébergement, traitement et suivi des animaux :

Les animaux utilisés au cours de cette expérimentation sont de jeunes rates, de souche *Wistar* âgées de 4 à 6 semaines présentant un poids initial compris entre de 90-115 g. Ces animaux ont été fournis par l'institut Pasteur d'Alger-kouba, des femelles ont été choisies préférentiellement car elles représentent une cible particulièrement sensible aux perturbateurs endocriniens essentiellement le Bisphénol A.

Dès leur réception, les animaux ont été répartis en 6 groupes de 5 individus. Les différents lots constitués représentaient des moyennes de poids corporels relativement égaux.

Chaque rate a été logée individuellement dans une cage en polypropylène afin d'éviter toute contamination de BPA due à l'utilisation de polycarbonate (annexe I). Les rates ont été hébergées au sein de l'animalerie du laboratoire d'autopsie clinique de l'institut des sciences vétérinaires (Université Ibn Khaldoun – Tiaret) où règne une température constante ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), elles ont eu accès à volonté à la nourriture et à la boisson. Une période d'acclimatation de 12 jours a été allouée aux rates avant le début du protocole expérimental. Après cette période et pendant 16 semaines, elles ont été nourries avec un régime standard ou un régime Hyper gras et elles ont été exposées ou pas à deux polluants environnementaux soit le Bisphénol A ou le tébuconazole à une dose de $50\mu\text{g/kg/j}$ et $30\mu\text{g/kg/j}$ respectivement par voie orale via l'eau de boisson fournie dans des biberons. Ces derniers sont composés d'une bouteille en polypropylène et d'une tétine en inox inoxydable. Les 6 lots préalablement constitués ont été soumis aux conditions ci-dessous :

- Les animaux du premier lot (ST) ont reçu un régime Standard à base d'amidon (42,12%) et une eau de boisson standard.
- Le second lot (HG) a été soumis à un régime Hypergras (HG) enrichi en graisse animale ovine (48%) et a reçu une eau de boisson standard.
- Le troisième lot (BPAHG) a été soumis à un régime Hypergras (HG) et exposé au Bisphénol A (BPA à 50 ug/kg/j) via l'eau de boisson.
- Le quatrième lot (BPA) a reçu un régime Standard et a été exposé au Bisphénol A (BPA à 50 ug/kg/j).
- Le cinquième lot (TEBHG) a été soumis à un régime Hypergras (HG) et a été exposé au Tébuconazole (TEB à 30 ug/kg/j).
- Le sixième lot (TEB) a reçu à un régime Standard (S) et a été exposé au Tébuconazole (TEB à 30 ug/kg/j).

Matériel et Méthodes

On note que durant la période expérimentale (16 semaines), un suivi quotidien de la consommation alimentaire, l'eau de boisson, du poids corporel et du comportement des animaux a été effectué. Aussi durant toute l'expérimentation, les animaux ont été manipulés par les mêmes expérimentatrices afin d'éviter tout stress.

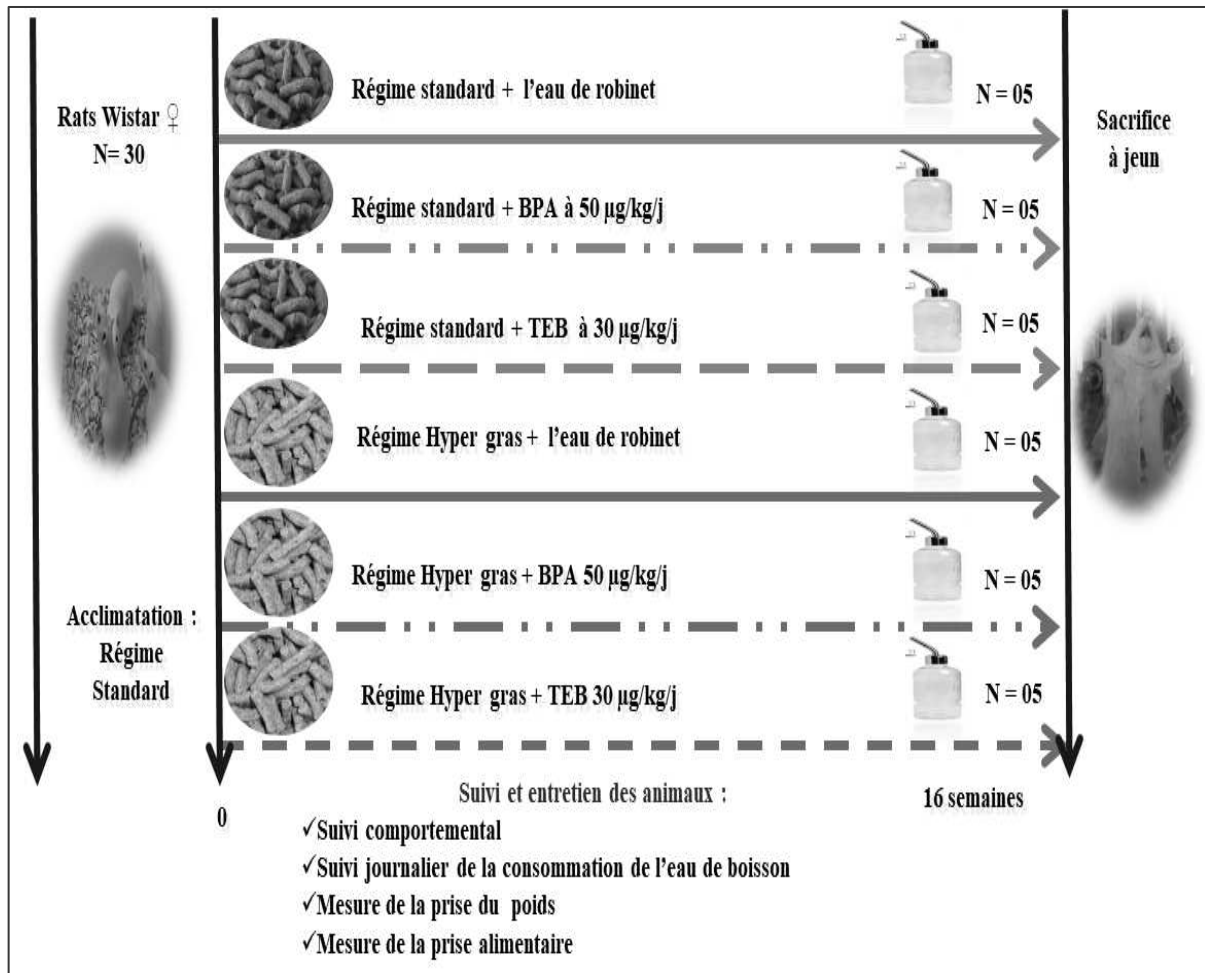


Figure n°03 : Protocole du suivi des rates durant l'étude.

Matériel et Méthodes

Le sacrifice a été réalisé au niveau du laboratoire d'autopsie clinique de l'Institut des Sciences Vétérinaires, «Université Ibn Khaldoun -Tiaret». Le sang et les organes (cerveau, cœur, foie, reins, rate et tissu adipeux) ont été prélevés et conservés soigneusement dans des conditions adéquates pour l'évaluation des différents paramètres biochimiques, oxydatifs et d'autres investigations ultérieures.

La figure illustrée ci-dessous résume les différentes procédures expérimentales effectuées au cours de cette étude

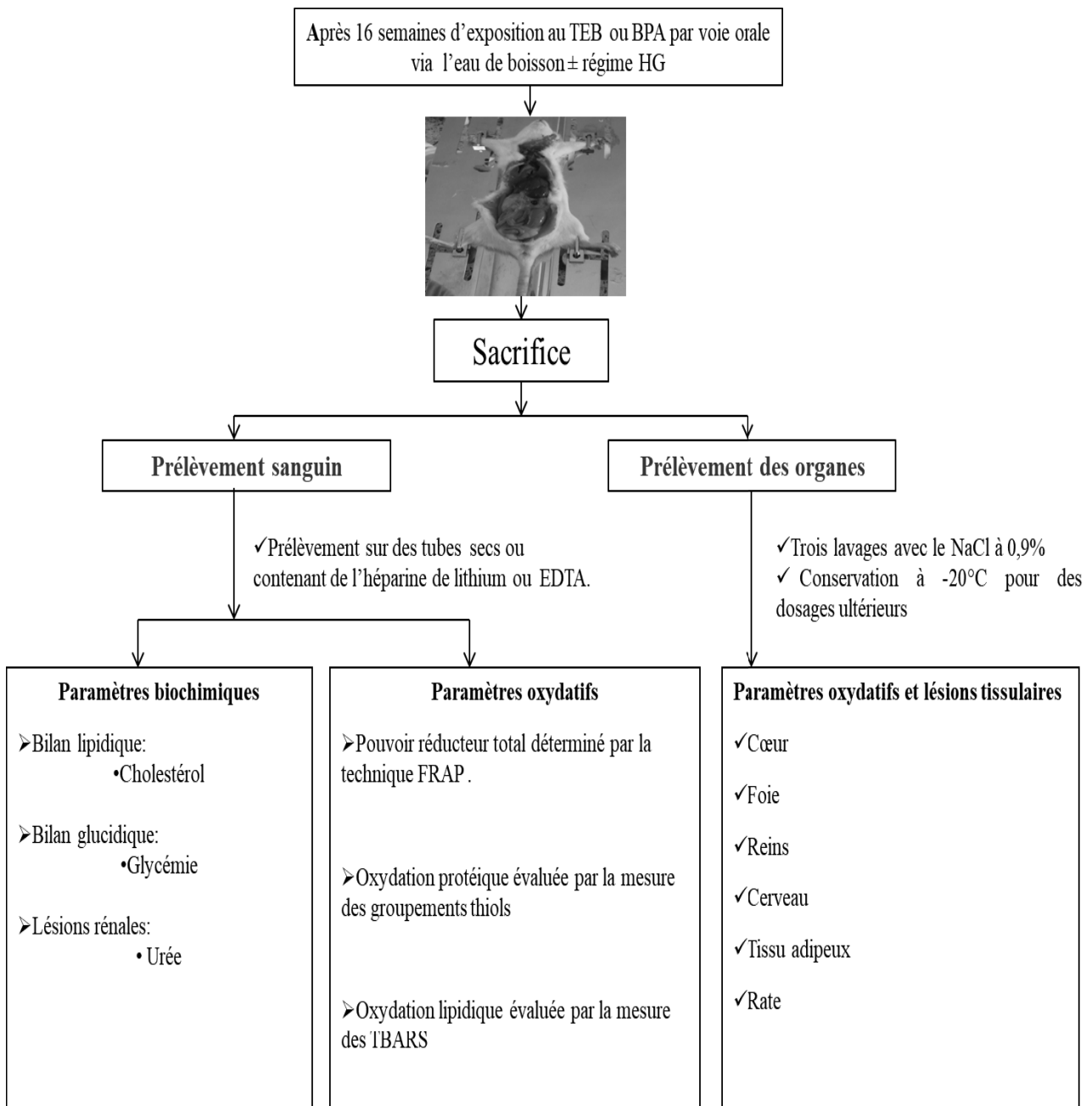


Figure n° 04 : Organigramme de la procédure expérimentale

2.5 Choix de la dose et de la voie d'administration

Afin d'imiter les conditions environnementales et éviter le stress pouvant affecter les animaux traités, l'exposition aux différents polluants a été effectuée par voie orale via l'eau de boisson (l'eau de robinet), les doses étudiées sont de 50 µg/kg/j et 30 µg/kg/j pour le BPA et le TEB respectivement et correspondent à la dose journalière admissible (DJA) chez l'homme. Le choix de ces doses d'exposition repose sur le fait que les perturbateurs endocriniens (particulièrement le BPA) ne suivent pas les dogmes classiques de la cytotoxicité.

Ils agissent en effet à de très faibles doses, qui peuvent être largement en dessous de la dose journalière admissible, sans suivre pour autant une relation linéaire dose/effet.

Le choix de l'administration du BPA et du TEB, par voie orale via l'eau de boisson, est justifié par le fait que cette méthode permet d'effectuer une exposition chronique répétée et répartie sur la journée, contrairement au gavage intra-gastrique qui se fait généralement en une fois. La voie orale permet également de prendre en compte le métabolisme du BPA au sein de l'organisme (**Lecorre *et al.*, 2013**).

2.6 Stratégie d'exposition au bisphénol A et au tébuconazole

Les solutions d'exposition correspondaient à deux solutions mères de BPA et de TEB et à des concentrations de 45,5mg/l et 27 mg/l respectivement. Ces dernières ont été préparées dans de l'éthanol à 10% ensuite diluées à 1/100 dans un volume final d'eau afin d'obtenir des doses de consommation journalière de l'ordre de 50 µg/Kg/j pour le BPA et de 30 µg/Kg/j pour le TEB (**Rönn *et al.*, 2012**). D'autre part une troisième solution mère d'éthanol à 10% a été préparée et diluée à 1/100 dans le volume final d'eau de boisson, celle-ci a été destinée aux deux groupes non traités aux polluants pour adapter les animaux des différents groupes aux mêmes conditions d'exposition. La consommation de BPA ou du TEB a été vérifiée chaque jour en mesurant le volume d'eau consommée et le poids des rates. Les taux d'exposition au BPA ou du TEB sur toute la durée du protocole étaient en moyenne de $40,80 \pm 2,26$ et de $23,57 \pm 1,44$ respectivement (voir annexe II). L'eau de boisson a été changée deux fois par semaine, cette fréquence est sans risque de dégradation du BPA ou du TEB (**Le corre *et al.*, 2013**).

2.7 Composition des régimes expérimentaux

La composition du régime inducteur de troubles métaboliques l'obésité chez le rat Wistar a été déterminée en se basant sur des données bibliographiques qui stipulent que les régimes alimentaires contenant plus de 30% des apports énergétiques sous forme de lipides (acides gras saturés) entraînent

Matériel et Méthodes

le développement d'une obésité associée à des désordres métaboliques dus à une augmentation de la prise calorique (Garait, 2006).

La préparation des différents régimes, au cours de cette expérimentation, a été réalisée deux fois par semaine au sein du laboratoire d'Amélioration et Valorisation des Productions Animales Locales. Les ingrédients utilisés pour préparer chaque régime ont été fournis gracieusement par l'Office Nationale d'Aliment de Bétail (ONAB) de Rahouia et ont été répartis de telle sorte que les pourcentages des protéines, de la cellulose, des vitamines et des sels minéraux varient peu d'un régime à l'autre. La composition des régimes standard et hypergras ainsi que la constitution en acides gras saturés de la matière grasse utilisée dans la conception de ce régime figurent dans le tableau ci-dessous.

Tableau n°03 : Composition des régimes alimentaire (Sauvant *et al.*, 2004).

	Composition	
	Standard (%)	Hyper gras (%)
Amidon	42,12	2,59
Cellulose	3,34	3,17
Protéines	14,406	15,94
Matière grasse	0	48
Energie (kcal/100g)	409,615	679,92

Acide gras	Type AG	Pourcentage (%)
Lauric	C12:0	0,1
Myristic	C14:0	3,3
Palmitic	C16:0	25,3
palmtoleic	C16:1	3,4
stearic	C18:0	19,2
Oleic	C18:1	37,5
Linoleic	C18:2 ω-6	2,8
Linolenic ALA	C18:3ω3	0,6

a) Composition des régimes standard et hypergras

b) Composition du profil lipidique du régime hypergras

2.8 Prélèvements et préparation du matériel biologique

2.8.1 Prélèvement sanguin

Les animaux, maintenus à jeun depuis 24 heures en vue de leur sacrifice le lendemain, ont été anesthésiés à l'éther par inhalation, le sang a été prélevé et recueilli dans trois tubes différents : sec, hépariné et EDTA. Après une légère agitation, les tubes ont été incubés dans la glace pendant 30 mn avant d'être centrifugés à 4000 tr/mn pendant 10 mn. Le plasma obtenu après centrifugation a été

Matériel et Méthodes

recueilli, aliquoté dans des tubes et conservé à -20°C pour les analyses ultérieures : bilan lipidique (Cholestérolémie, Triglycérides, HDL, LDL) ; glycémie ; lésions hépatiques (Transaminases : TGO/TGP), lésions rénales (créatinine, urée) ainsi que l'évaluation des paramètres oxydatifs.

2.8.2 Prélèvement d'organes

Après le prélèvement sanguin, le cœur, le cerveau, le foie, les reins, la rate et le tissu adipeux sont soigneusement prélevés, rincés avec du NaCl à 0,9 %, pesés et conservés à -20°C pour d'éventuelles explorations.

2.9 Etudes des paramètres biochimiques

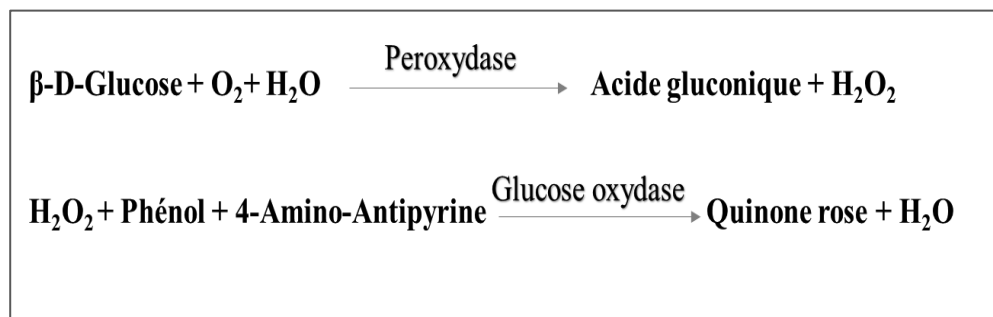
2.9.1 Détermination de la teneur en glucose

– Principe

La teneur en glucose est déterminée par la méthode enzymatique et colorimétrique en présence du glucose oxydase (GOD). Le glucose est oxydé par la GOD en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène qui réagit en présence de peroxydase (POD) avec le chloro-4-phenol et le 4-amino-antipyrène (PAP). La coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en glucose présente dans l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde de 505 nm, ce dosage a été réalisé à l'aide du kit (BIOLABO (voir annexe III) (Trinder, 1969).

– Mode opératoire

10 µl de chaque échantillon et de l'étalon ont été prélevés ensuite ajoutés à 1ml de la solution de travail fournis par le kit BIOLABO, le mélange ainsi obtenu a été incubé pendant 10 minutes à 37°C. L'absorbance a été ensuite mesurée au spectrophotomètre à 505 nm contre un blanc sans glucose. L'étalon a été utilisé comme une référence pour la quantification des taux de glucose dans le plasma et a une concentration précise de glucose égal à (1 g/L).



Les résultats sont exprimés en g/l de glucose et la concentration du glucose dans les échantillons est calculée selon la formule ci-après :

Matériel et Méthodes

$$\text{Résultat} = \frac{\text{Abs (Dosage)}}{\text{Abs (Étalon)}} * \text{Concentration de l'étalon (g/l)}$$

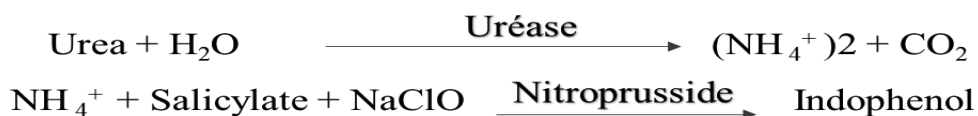
2.9.2 Détermination des teneurs en urée

– Principe

C'est une méthode enzymatique et colorimétrique basée sur l'action spécifique de l'uréase qui hydrolyse l'urée en ions ammonium et carbonates. Les ions ammonium forment ensuite avec le chlore et le salicylate un complexe coloré en bleu. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en urée dans l'échantillon (Searcy *et al.*, 1967)

– Mode opératoire

5 µl de l'échantillon ou de l'étalon à une concentration de 0,40 g/l ont été ajoutés à 1000µl du réactif de travail préparé en mélangeant le salicylate avec de l'uréase (R1+R2) fourni par le kit BIOLABO (voir annexe IV), le mélange obtenu a été incubé pendant 2 minutes à 37°C, 250 µl du réactif alcalin pur (R3) ont été ajoutés à cette solution, l'ensemble a été incubé à 37°C pendant 5 minutes.



L'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à 600 nm contre un blanc, les résultats sont exprimés en g/l de l'urée et calculés selon la formule suivante

$$\text{Résultat} = \frac{\text{Abs (Dosage)}}{\text{Abs (Étalon)}} * \text{Concentration de l'étalon (g/l)}$$

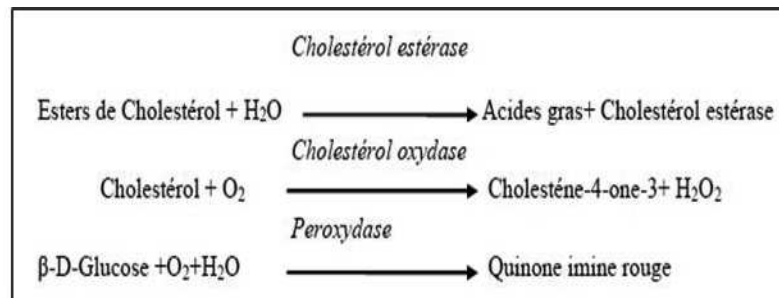
2.9.3 Détermination des teneurs en cholestérol total

– Principe

Le cholestérol total exprimé en (g/l) est dosé par la méthode colorimétrique enzymatique en utilisant le kit Biomaghreb et ce au niveau du plasma. Les esters de cholestérol sont hydrolysés par le cholestérol estérase en cholestérol libre et en acides gras. Ce cholestérol libre produit et celui préexistant sont oxydés par une enzyme cholestérol oxydase en Δ^4 cholesterone et peroxyde

Matériel et Méthodes

d'hydrogène. Ce dernier en présence de peroxydase oxyde le chromogène en un composé de couleur rouge. L'absorbance du quinoneimine coloré mesurée à 505 nm est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol contenu dans l'échantillon (**Richmond, 1973**).



– Mode opératoire

La solution de travail a été préparée par le mélange des réactifs 1 et 2 fournis par le kit (Voir annexe V). Pour la réalisation de ce test, 10 µl de chaque échantillon de plasma et de l'étalon ont été prélevés et ensuite ajoutés à 1ml de la solution de travail et homogénéisé, le mélange ainsi obtenu a été incubé pendant 10 minutes à 37°C.

L'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à 505 nm contre un blanc ne contenant que de l'eau distillée. Notons que l'étalon a été utilisé afin de quantifier le taux du cholestérol dans les échantillons et qui contient une quantité précise de cholestérol qui est de 2 g/l.

Les résultats sont exprimés en g/l de cholestérol et calculés selon la formule suivante :

$$\text{Résultat} = \frac{\text{Abs (Dosage)}}{\text{Abs (Etalon)}} * \text{Concentration de l'étalon (2g/l)}$$

2.10 Etude des paramètres oxydatifs

2.10.1 Evaluation de la peroxydation lipidique par le dosage des substances réagissantes avec l'acide thiobarbiturique (TBARS)

– Principe

L'évaluation des teneurs en MDA repose sur une méthode de dosage indirecte de l'impact des radicaux libres. Elle mesure les substances issues de la lipopéroxydation réagissantes avec l'acide thiobarbiturique (TBA). La réaction de dosage, décrite par **Kohn et Liversedge en 1951**, précisée par **Patton et Kuntz en 1951**, repose sur la formation en milieu acide et à chaud entre le malondialdéhyde et deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA), d'un pigment absorbant à 532

nm, extractible par les solvants organiques comme le butanol-1. La réaction colorée, observée avec l'acide thiobarbiturique, mesure non seulement le malondialdéhyde préexistant, mais aussi le malondialdéhyde formé de manière artéfactuelle par décomposition thermique des peroxydes, et de ceux générés au cours même de la réaction. Les méthodes utilisées actuellement dérivent de celle de (Yagi ,1976).

– Mode opératoire

Cette analyse a été réalisée sur plasma 400 µL d'un mélange réactionnel constitué d'acide thiobarbiturique (TBA à 0,375 %) d'acide trichloracétique (TCA à 20%), 2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol (BHT à 0.01%) et chlorure d'hydrogène (HCl à 1N) sont ajoutés à 100 µl d'échantillon. Après agitation de 2 min, le mélange est incubé au bain marie à 100°C pendant 15 minutes. Durant cette étape, les fonctions aldéhydiques du dialdéhyde malonique (MDA) sont libérées par l'hydrolyse acide à 100°C. Elles réagissent avec le TBA en formant un complexe coloré en rose (MDA-TBA). Pour arrêter la réaction, les tubes sont placés dans la glace, le complexe ainsi formé est extrait par le butanol-1 et centrifugé à 4000 tr/min pendant 10 min à 4°C.

Après centrifugation, la quantification du complexe est effectuée sur un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 532nm. La concentration en MDA plasmatique est calculée en utilisant une courbe d'étalon de 1, 1, 3,3-Tétra Ethoxy Propane (MDA) (Voir annexe VI).

2.10.2 Détermination du pouvoir antioxydant total par la technique FRAP « *Ferric Reducing Antioxydant Power* »

– Principe

La méthode FRAP développée par Benzie et Strain (1996) est basée sur la réduction d'un complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III) -TPTZ)₂] en un complexe tripyridyltriazine ferreux [(Fe(II)-TPTZ)₂] par un antioxydant (AH), à un pH de 3,6 pour maintenir la solubilité du fer (Voir figure n° 05). Lors de la réduction du complexe ferrique en complexe ferreux une coloration bleue intense apparaît très rapidement avec un maximum d'absorption à 593 nm. Le pouvoir réducteur est proportionnel à la formation de la couleur bleue, plus la couleur bleue est intense, plus l'échantillon peut être considéré comme un bon réducteur.

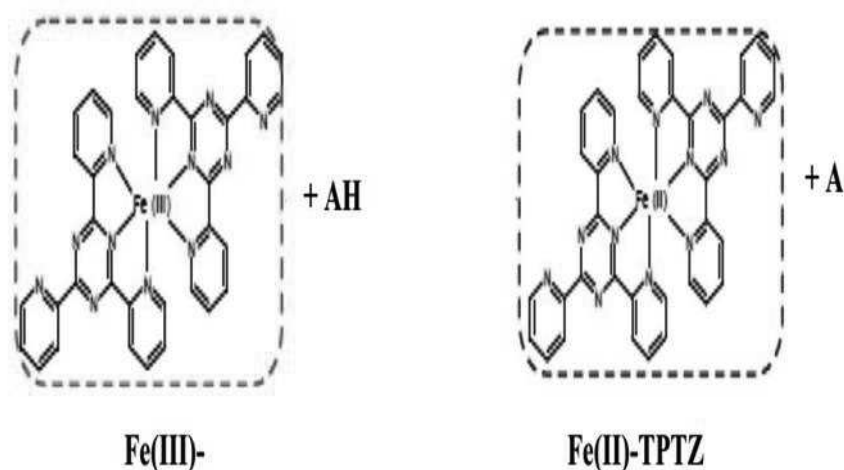


Figure n° 05 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)-TPTZ et un antioxydant (AH).

– **Mode opératoire**

Ce test peut être utilisé comme un index du pouvoir antioxydant des défenses non enzymatiques. Il est basé sur la mesure de la réduction par le plasma dans des conditions d'acidité (pH 3,6), d'une solution comprenant du tampon acétate, une solution à base de 2, 4,6 Tripyridyl -s-triazine (TPTZ), et un sel ferrique (FeCl_3), ce qui provoque la formation du complexe TPTZ- Fe^{++} de couleur bleue. Une gamme étalon est obtenue à partir d'une solution mère de FeSO_4 à 100 mM (15,62 μM à 500 μM) (la courbe de la gamme d'étalonnage figure dans l'annexe VII).

La solution FRAP est préparée à partir des trois solutions initiales : tampon acétate ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$, $3\text{H}_2\text{O}$ et $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$) à pH 3,6, TPTZ à 8 mM et $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ à 20mM) et placée à 37°C pendant toute la durée de l'analyse. 100 μl d'échantillon dilués ou de la solution de la gamme ont été ajoutés à 900 μl de la solution FRAP. La lecture des échantillons a été réalisée après 30 minutes d'incubation par spectrométrie à 593 nm.

2.10.3 Oxydation des Protéines dosage des groupements Thiols (Faure et Lafond, 1995)

– **Principe**

Lors de l'oxydation des protéines, les groupements SH sont oxydés et forment des ponts disulfures S-S. C'est une méthode colorimétrique qui repose sur les propriétés réductrices des groupements thiols (SH). En présence des groupements thiols de l'échantillon, le pont disulfure (S-S) contenu dans le réactif d'Ellman ou DTNB (5-5' dithionitro benzoic acid) va être réduit et donner des dérivés thiols aromatiques [RNB (acide 5-thio (2-nitrobenzoïque))] colorés et possédant une absorbance 412 nm. La vitesse de la réaction sera différente selon que le DTNB se trouve en présence de SH protéiques ou non protéiques.

Matériel et Méthodes

Cette différence peut, dans certaines conditions de pH et de forme ionique, être accentuée et permettre ainsi la mesure des SH protéiques et celle des SH totaux. Les groupements thiols protéiques sont très sensibles à l'oxydation, y compris par l'oxygène moléculaire. Il convient de manipuler rapidement les échantillons à 4°C, d'utiliser des centrifugeuses réfrigérées. Il est possible de conserver les échantillons à - 20°C.

– Mode opératoire

375 µl de tampon phosphate (0,05 M + EDTA à 1µM) ont été ajoutés à 250 µl de l'échantillon ou du point de gamme (préparée à partir d'une solution de N-Acetyl-Cystéine (NAC à 1 mM), ou d'échantillon, après une légère agitation 125 µl du réactif d'ELLMAN ont été ajoutés, le mélange ainsi obtenu a été agité à l'aide d'un vortex et incubé pendant 15 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. La lecture de l'absorbance a été effectuée à une longueur d'onde de 412 nm (la courbe d'étalonnage figure dans l'annexe VIII).

2.11 Traitement statistique

L'ensemble des résultats obtenus sont présentés sous forme de moyenne \pm SEM (*Standard error of the mean*). L'analyse statistique des données a été conduite en utilisant le logiciel STATISTICA (version 8.0). La comparaison des moyennes (comparaison entre les six groupes de rats) a été réalisée via le test ANOVA à un facteur. Ce dernier a été complété par le test Ducan's afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Une valeur de $p < 0,05$ a été retenue comme seuil de signification. On note que :

- Pour un $P < 0,05$ la différence est significative.
- Pour un $p < 0,01$ la différence est très significative.
- Pour un $p < 0,001$ la différence est hautement significative.

Chapitre 3

Résultats et Discussion

Cette partie consiste à présenter les résultats obtenus lors de notre étude tout en se basant sur le poids du tissu adipeux, l'apport énergétique, les paramètres biochimiques et oxydatifs qui ont permis de mettre en évidence les conséquences d'une consommation hypercalorique, l'impact de l'exposition aux polluants environnementaux, le Bisphenol A et le tébuconazole ainsi que l'effet combiné : régime hypercalorique/polluants.

3.1 Impact de l'exposition aux polluants et du régime hypergras sur le tissu adipeux et l'apport énergétique

Les résultats concernant le poids du tissu adipeux illustrés dans la figure n°06, révèlent que le groupe de rats femelles soumis au régime standard (ST) possède une masse du tissu adipeux, évaluée à $8,6848 \pm 0,22$ g, largement inférieure avec une différence très significative ($P = 0,01$), à celle des rats femelles sous régime hypergras (HG). En effet, ces dernières possèdent une masse graisseuse évaluée à $10,849 \pm 0,59$ g et supérieure à celle des rats femelles témoins exposées au BisphénolA (BPA) avec une valeur de $6,576 \pm 0,36$ g ou bien au Tébucanazole (TEB), celui-ci présente une valeur de $6,982 \pm 0,54$ g, les différences constatées sont hautement significatives ($P < 0,001$). Cependant, et contrairement aux trois premiers groupes, (ST, BPA et TEB), les individus du lot exposé au TEB et sous régime HG (TEBHG) possèdent un poids du tissu adipeux assez important en comparaison avec celui des animaux sous régime HG, la différence constatée est hautement significative ($P = 0,001$), on note $15,706 \pm 0,62$ g *versus* $10,849 \pm 0,59$ g respectivement. Aussi, une augmentation de la masse adipeuse est révélée chez le lot des rats femelles exposées au BPA et nourries par le régime HG ($12,109 \pm 0,49$ g), seulement cette augmentation reste non significative, avec $P = 0,083$, et ce en comparaison avec la masse du tissu adipeux des rats femelles sous régime HG (Voir figure n°06). Toutefois, il est intéressant de signaler que le groupe des rats femelles exposées au BPA et sous régime HG (BPAHG) et celui des rats femelles exposées au TEB et sous le même régime (TEBHG), dévoilent des taux d'augmentation de la masse adipeuse significativement différents, ces derniers sont de l'ordre de 12 % pour le groupe BPAHG et 45 % pour le groupe TEBHG. Ces taux d'augmentation sont évalués par rapport au poids du tissu adipeux du groupe de rats femelles soumises au régime HG.

Résultats et Discussion

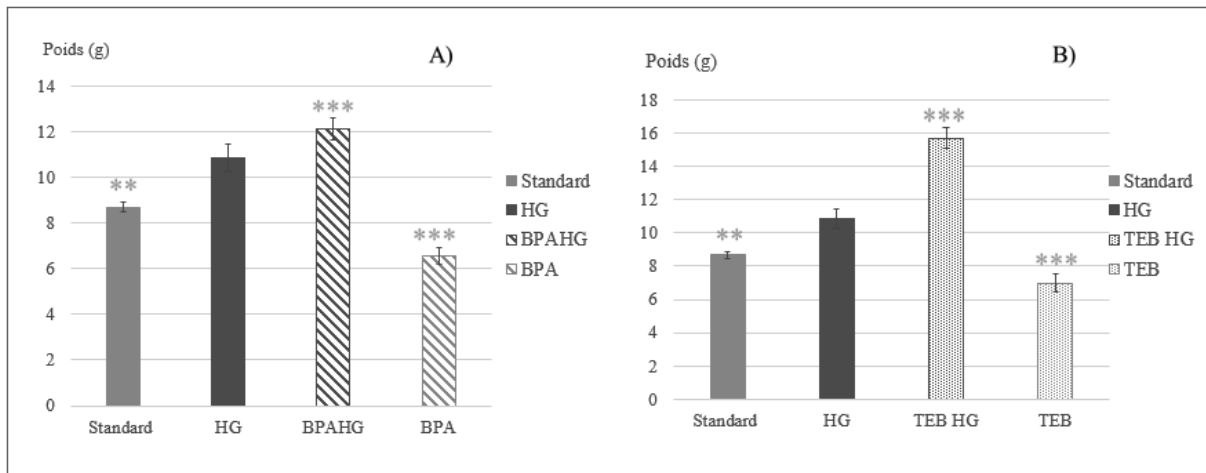


Figure n° 06 : Poids absolu du tissu adipeux des rats femelles des 6 lots expérimentaux

Les résultats sont exprimés sous la forme de moyennes \pm SEM avec $n=5$

(A) : groupes Bisphénol A ; (B) : groupes Tébuconazoles.

Les comparaisons ont été effectuées par rapport aux rats femelles du groupe hypergras (HG).

(** Différence très significative, *** Différence hautement significative).

Le régime hypergras utilisé dans notre étude est un régime très riche en acides gras saturés il est composé de 48 % de graisse d'origine ovine. Il influence le tissu adipeux via une augmentation très significative du poids de la masse grasseuse, celle-ci est évaluée à 25% en comparaison avec le groupe des rats femelles sous régime Standard. Ceci confirme qu'un apport calorique élevé est associé à une amplification de tissu adipeux et demeure le principal responsable du développement de l'obésité (Golay *et al.*, 1998 ; Bleich *et al.*, 2008).

Nos résultats corroborent ceux indiqués par Golay *et ses collaborateurs* (1998). Ces chercheurs rapportent, que des rats nourris pendant 10 semaines par un régime hypercalorique (contenant 65 % de graisse) provoque une amplification de la masse adipeuse, ils expliquent qu'un régime hypercalorique est associé à une accumulation de tissu adipeux et une surcharge pondérale pouvant aller jusqu'à l'obésité chez l'homme et chez l'animal (Golay *et al.*, 1998). D'après Ailhaud *et al* (2006) les régimes riches en AGS et AGPI n-6, combinés avec la sédentarité favorise l'adipogenèse. Une autre étude a démontré, que le traitement des souris pendant 5 semaines par un régime hypergras (constitué de 40 % de lipides) est suffisant pour induire un gain de poids important (Veyrat-Durebex *et al.*, 2011). Ceci va de pair avec les travaux menés par Wit et ses collaborateurs, ces derniers ont induit une obésité après 8 semaines de traitement par un régime contenant (45% de lipides). Cani et ses collaborateurs (2008), affirment qu'un déséquilibre alimentaire en faveur d'un apport énergétique supérieur aux dépenses de l'organisme, débouche sur un excès de masse grasseuse qui mène au développement de l'obésité et ces complications métaboliques (Cani *et al.*, 2008). En effet, le tissu

Résultats et Discussion

adipeux est la plus importante réserve énergétique de l'organisme, et son rôle essentiel est d'assurer le maintien de l'équilibre énergétique. Cependant le dysfonctionnement et l'inflation de cet organe sont impliqués dans le développement de l'inflammation (**Hauner, 2004**) et dans la survenue de l'obésité et ses complications (**Ziegler et al., 2007**).

Parallèlement, nos résultats enregistrent une diminution significative de la masse adipeuse chez les rats femelles traitées par le TEB ou le BPA et sous régime standard *versus* les rats femelles sous régime standard seul. Ces résultats sont concordants avec ceux rapportés par **Hassan et al (2012)**, au cours de leur étude, ces auteurs ont exposé des rats wistar à 0,1 mg/kg/j de bisphénol A, celui-ci a provoqué une diminution significative du poids corporel des rats. Dans une étude semblable menée sur des rats femelles gestantes, le gain de poids corporel de la mère pendant la gestation était réduit après une exposition au tebuconazole (**Moser et al., 2001**). De manière contradictoire, il a été démontré qu'une exposition à long terme et à 50 µg/kg/j de BPA n'a pas d'effet direct sur le poids corporel total et le pourcentage de graisse corporelle des rats sous régime hypergras. (**Ding et al., 2014**). Cependant, une étude évoque que BPA administré par voie orale chez des rats conduit à une adipogenèse et l'hypertrophie des adipocytes (**Somm et al., 2009**). Ces divergences de résultats peuvent être expliquées par les différences entre les espèces animales utilisées, les conditions expérimentales (la dose, la voie d'exposition, la durée d'exposition,...), etc.

En effet, plusieurs études attestent que les effets adverses dus à l'exposition aux perturbateurs endocriniens pouvaient largement varier selon l'âge, le sexe, le contexte nutritionnel, la période d'exposition et la posologie (**Barouki., 2013 ; Schlienger., 2014**).

Comme rapporté précédemment, on constate une élévation hautement significative de masse grasseuse estimée à 45% chez les rats femelles du groupe TEBHG *versus* le groupe HG, alors que le poids de la masse adipeuse chez le groupe BPAHG a une tendance à être significatif ($p = 0,08$) avec un taux d'augmentation évalué à 12% par rapport au groupe HG. D'autre part, le groupe des rats femelles sous régime hypergras et exposées au BPA ou au TEB, accentue le développement de la masse grasseuse, celle-ci subit une augmentation de 39 % constatée chez les groupe sous régime hypergras et exposé au BPA et de 80 % chez le groupe sous le même régime et exposé au TEB et ce en comparaison avec le groupe des rates soumises au régime standard (le contrôle). Ces résultats confirment l'hypothèse sur l'effet combiné du régime HG et l'exposition au polluant sur l'augmentation du taux de la masse adipeuse (**Lecorre et al., 2013**). Il semblerait que l'exposition au TEB accentue de manière significative l'effet du régime HG sur l'expansion ou le développement du tissu adipeux en comparaison avec les animaux sous régime HG et exposés au BPA. Nos résultats nous laissent supposer que ces polluants ciblent le tissu adipeux, en augmentant sa masse et en

Résultats et Discussion

modifiant sa structure. Ce tissu peut être impliqué dans la régulation de la cinétique de ces polluants et contribue ainsi à leur stockage et à leur libération à bas bruit.

Actuellement, il est largement admis qu'il existe un lien entre les polluants et le développement de l'obésité et ses complications (**Ravussin, 1995**). Parmi les polluants suspects figuraient les composés polychlorobiphényles (PCB), les dioxines, les phtalates, les pesticides et le BPA. Cette association a été peu à peu étayée par plusieurs études *in vitro* et *in vivo*. En effet, l'hypothèse, selon laquelle des produits chimiques de l'environnement essentiellement les polluants organiques persistants comme les pesticides et le BPA pouvaient être « obésogènes », a été formulée après avoir constaté que les rats et les souris exposés au BPA durant la gestation et l'allaitement présentaient un poids plus élevé (**Rubin et al., 2001 ; Baillie-Hamilton, 2002**). Certains travaux confirment que le tissu adipeux est la cible de certains polluants, particulièrement les perturbateurs endocriniens (PE) (**Vendenberg et al., 2009**). Ce tissu est le lieu de stockage de nombreux polluants organiques persistants, lipophiles, comme le BPA et le Tebecunazole (**Tomlin, 2003 ; Youness, 2013**). Ces molécules hydrophobes ont tendance à s'empiler dans la masse adipeuse ou elles subissent une bioconcentration (**Hue et al., 2007**) réduisant ainsi leur biodisponibilité pour d'autres tissus et cellules), elles sont susceptibles d'intervenir localement en modifiant la programmation adipocytaire (**Barouki, 2013**), ceci a été confirmé par des travaux effectués en 1980 et 1990, ces derniers montrent une relation inverse entre la toxicité et la masse grasseuse de différentes espèces animales. Les auteurs ont comparé la toxicité aiguë (traitement de 30 jours) de la (2,3,7,8-tetrachlorodibenzodioxine ou TCDD), chez une vingtaine d'espèces de mammifères avec l'indice de masse corporelle (IMC) de ces espèces ; ils ont déduit une relation positive entre la masse grasse et la DL50 (**Geyer et al., 1997**).

D'autres arguments expérimentaux indiquent, qu'à la phase périnatale, les perturbateurs endocriniens, à l'instar du BPA et certains pesticides, auraient un effet obésogène par le biais de l'augmentation de l'expression des facteurs de transcription adipogènes dans les préadipocytes (**Schlienger, 2014**).

Ces composés chimiques, interfèrent avec le système physiologique du tissu adipeux et pourraient de ce fait influencer la production de la leptine et de de l'adiponéctine, (une adipokine anti-inflammatoire vaso-protectrice, impliquée également dans le maintien de l'homéostasie glucidique), et modifier ainsi l'équilibre hormonal et métabolique des adipocytes (**Topari et al., 2009**). Selon une étude menée par (**Hugo et al., 2008**), le BPA à de faibles concentrations de l'ordre de nanomolaire inhibe la libération d'adiponéctine par des explants de tissu adipeux et favorise l'expression de Era et $Er\beta$, (récepteur d'œstrogène α , récepteur d'œstrogène β) l'activation de ces

Résultats et Discussion

facteurs conduit à une augmentation du nombre de cellules adipeuses au cours du développement (Hugo *et al.*, 2008).

De nombreux auteurs confirment que les niveaux faibles de l'adiponéctine sont associés au risque cardiovasculaire chez les sujets obèses ou en surpoids (Matsuzawa, 2006).

Dans notre étude et après avoir évalué le nombre de calorie sur les 16 semaines de traitement, aucune différence significative n'a été décelée entre les différents groupes expérimentaux (Standard, HG : exposés ou non au BPA ou au TEB). A l'exception de l'apport énergétique du groupe TEBHG (403,95 ± 17,67 Kcal/semaine) celui-ci exhibe une différence significativement inférieure, avec $P = 0,01$, à celui du groupe BPAHG (613,96 ± 62,75 Kcal/semaine) (voir figure n°07). Nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par Somm et son équipe qui apportent que l'exposition au BPA n'affecte en aucun cas la consommation journalière des rats, qu'ils soient alimentés par une régime standard ou par un régime riche en graisses (Somm *et al.*, 2009).

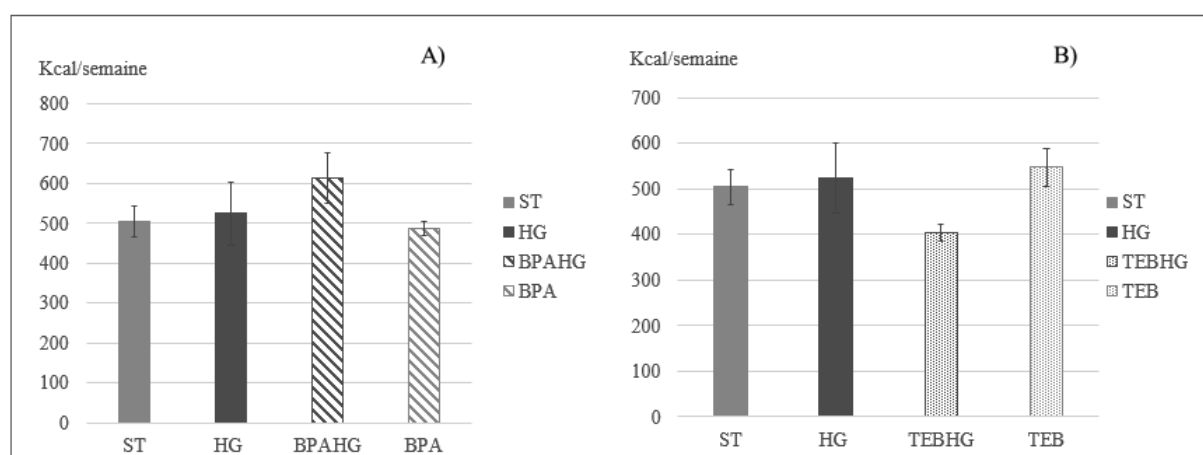


Figure n° 07 : Energie ingérées (kcal/semaine) par les rats femelles des différents groupes pendant les 16 semaines d'expérimentation.

(A) : groupes Bisphénol A ; (B) : groupes Tébuconazole.

3.2 Impact de l'exposition aux polluants et du régime hypergras sur les teneurs plasmatiques en cholestérol, glycémie et en urée

Tableau n° 04 : Teneurs plasmatiques en cholestérol, glycémie et en urée chez les rats femelles des différents groupes expérimentaux exposées ou non au BPA ou au TEB

	Standard	BPA	TEB	HG	BPAHG	TEBHG
Cholestérol (g/l)	0,56±0,01	0,68 ± 0,02	0,75±0,01**	0,62±0,04	0,74±0,01**	0,62±0,02
Glycémie (g/l)	1,33±0,06	1,93 ± 0,08*	1,22 ± 0,32	1,20±0,13	1,49 ± 0,16	1,25±0,14
Urée (g/l)	0,27±0,02	0,40±0,02***	0,34±0,06***	0,20±0,06	0,27 ± 0,03	0,39±0,05**

Les comparaisons ont été effectuées par rapport aux rats femelles du groupe hypergras (HG).

* différence significative, ** différence très significative, *** différence hautement significative

Les résultats de l'estimation des teneurs en urée révèlent une différence significativement très élevée ($p < 0,001$) chez les rats femelles des groupes BPA, TEB et TEBHG en la comparant à celles du groupe HG. De ces résultats on constate que les groupes des rats femelles exposées au BPA ou au TEB présentent des teneurs plus élevées en urée avec une différence hautement significative en comparaison avec le groupe témoin ($0,40 \pm 0,02$ g/l et $0,34 \pm 0,06$ g/l vs $0,27 \pm 0,02$ g/l) ($p < 0,001$). L'estimation des teneurs en cholestérol indique des différences très significative entre le groupe TEB *versus* les groupes HG et BPAHG ($0,75 \pm 0,01$ g/l *versus* $0,62 \pm 0,04$ g/l ; $0,74 \pm 0,01$ g/l respectivement). En revanche, nos résultats montrent que uniquement les rats femelles exposées au BPA présentent une augmentation significative du taux du glucose plasmatique en comparaison avec pratiquement tous les groupes expérimentaux (ST, HG TEB et TEBHG) à l'exception du groupe BPAHG (voir tableau n° 04).

Ces résultats corroborent ceux obtenus par **Ding et al., (2014)**. Dans son étude menée sur des rats et leurs progénitures, Ding a démontré que le traitement BPA combiné ou pas à un régime riche en graisse est susceptible de créer un désordre dans le métabolisme du glucose ainsi qu'une altération de la fonction pancréatique, ceci a été constaté non seulement chez les rats mais aussi chez leurs progénitures (**Ding et al., 2014**). Il paraîtrait que le TEB ne génère pas le même effet observé avec BPA sur le métabolisme glucidique des rats femelles, puisque celui-ci n'engendre aucune différence significative en comparaison avec les différents groupes expérimentaux (voir tableau n° 04).

Résultats et Discussion

Il a été démontré qu'une exposition maternelle au BPA peut induire un dysfonctionnement des cellules β -pancréatiques et une altération de la signalisation de l'insuline dans le foie, entraînant une intolérance au glucose à l'âge adulte, et ce phénotype est exacerbé si les descendants sont nourris avec un régime riche en graisses (**Wei *et al.*, 2014**). L'exposition au BPA pendant la gestation reproduit en partie les effets d'un régime riche en graisses et notamment une hyperinsulinémie et une altération de la tolérance au glucose, évènements observés chez les souris mâles adultes. De ce fait, le BPA perturbe la fonction pancréatique mais également les tissus cibles à l'insuline. En plus des effets adverses liés à une exposition maternelle, le BPA peut également impacter le métabolisme des souris exposés à l'âge adulte (**Alonso-Magdalena *et al.*, 2011**).

Le dosage des taux du cholestérol effectué au cours de notre étude révèle que les rats femelles du groupe standard exposées au BPA présentaient un taux de cholestérol plasmatique élevé de manière significative, par rapport au groupe témoin (rats femelles soumises régime standard seul), on note $0,56 \pm 0,01$ g/l vs $0,68 \pm 0,02$ g/l respectivement. En effet, il a été rapporté que le traitement à long terme au BisphénolA modifie l'homéostasie du métabolisme des lipides (**zhang-hong *et al.*, 2016**). Nos résultats vont de pair avec ceux d'une étude similaire réalisée sur des souris exposées au BPA à long terme, ces dernières présentaient des taux sériques en cholestérol supérieurs à ceux du groupe contrôle. Le taux de cholestérol constaté au cours de cette étude était en corrélation avec l'expression de *Cyp7a1*, une enzyme clé très impliquée dans le métabolisme des lipides. (**Joshi *et al.*, 2016**). Il a été démontré que l'exposition de faibles doses de BPA altère le métabolisme des lipides contribuant au développement de la stéatose dans le foie. De plus, les auteurs ont démontré que l'expression de nombreux gènes du métabolisme des lipides fluctuait de façon non dépendante de la dose d'exposition du BPA selon une courbe non monotone (**Marmugi *et al.*, 2012**).

Les rats femelles sous régime standard et exposées au TEB présentent des teneurs en cholestérols plasmatiques supérieures à celles des rats femelles sous régime hypergras (HG) et à celles du groupe sous régime standard (ST) toutes les deux non exposées. On note des taux d'augmentation, significative, de l'ordre de **21%** et de **36%** respectivement. Cependant, aucune différence significative n'a été constatée entre les rats femelles sous régime standard exposées au TEB et celles du groupe HG exposées aussi de manière concomitante au TEB (voir tableau n°04). Il va de même pour les groupes ST et TEBHG.

Il est admis, que les molécules très hydrophobes ont tendance à s'accumuler dans les masses grasses de l'organisme et notamment dans le tissu adipeux, on peut supposer que l'accumulation du TEB dans le tissu adipeux réduit sa biodisponibilité, ce qui peut refléter un effet plus accentué du

TEB, sur le métabolisme du cholestérol du groupe standard en comparaison avec le groupe HG. Ce résultat est en concordance avec celui du tissu adipeux décrit précédemment.

Les teneurs plasmatiques en urée se sont révélées significatives chez les rats du groupe BPA, TEB et TEBHG *versus* le groupe HG. Ce résultat est similaire à ceux de **Kobroob *et al.*, (2017)**, qui apportent qu'une exposition des rats au BPA par voie orale, à différentes doses pendant 5 semaines, est susceptible d'entraîner des lésions rénales ainsi qu'une augmentation de l'urée plasmatique. D'après les résultats obtenus, le TEB et BPA réagissent de la même manière sur les lésions rénales, aucune différence significative n'a été enregistrée entre le taux de l'urée entre le groupe TEB et le groupe BPA (Voir tableau n°04).

3.3 Impact de l'exposition aux polluants et du régime hypergras sur les paramètres oxydatifs au niveau plasmatique

3.3.1 Evaluation de la peroxydation lipidique

Le résultat du dosage plasmatique en taux de MDA se révèle très significativement inférieur au sein du groupe ST en comparaison avec le groupe HG ($3,16 \pm 0,28 \mu\text{mol/l}$ vs $4,32 \pm 0,34 \mu\text{mol/l}$). Une augmentation très significative a été constatée chez les groupes de rats femelles BPAHG et TEBHG ainsi que hautement significative chez les groupes BPA, TEB, en opposant l'ensemble de ces groupe au groupe HG (voir figure n° 08).

Aussi, ce résultat révèle de manière intéressante une différence entre les deux groupes TEB et TEBHG. On distingue des taux d'augmentation des MDA plasmatiques significativement différents entre ces deux groupes, ces derniers sont de l'ordre de **52 %** pour le groupe TEB et de **27 %** pour le groupe TEBHG. Ces taux d'augmentation sont évalués par rapport aux teneurs en MDA des rats femelles soumises au régime HG. Ceci confirme les résultats du dosage du cholestérol. Il est fort probable que l'accumulation du TEB dans le tissu adipeux des rats femelles du groupe HG réduit sa biodisponibilité, ce qui limite, en conséquence, son effet oxydant sur les lipides (Voir figure n°09). Par contre, l'effet du TEB sur l'oxydation lipidique est plus accentué chez les rats femelles soumises à un régime standard. Le même effet a été constaté avec les groupes BPA/BPAHG mais seulement avec une tendance significative ($5,52 \pm 0,26 \mu\text{mol/l}$ vs $6,31 \pm 0,24 \mu\text{mol/l}$ avec un $(P=0,07)$). Aucune différence significative n'a été remarquée entre les groupes BPA et TEB ($6,13 \pm 0,24 \mu\text{mol/l}$ vs $6,55 \pm 0,36 \mu\text{mol/l}$ respectivement).

Résultats et Discussion

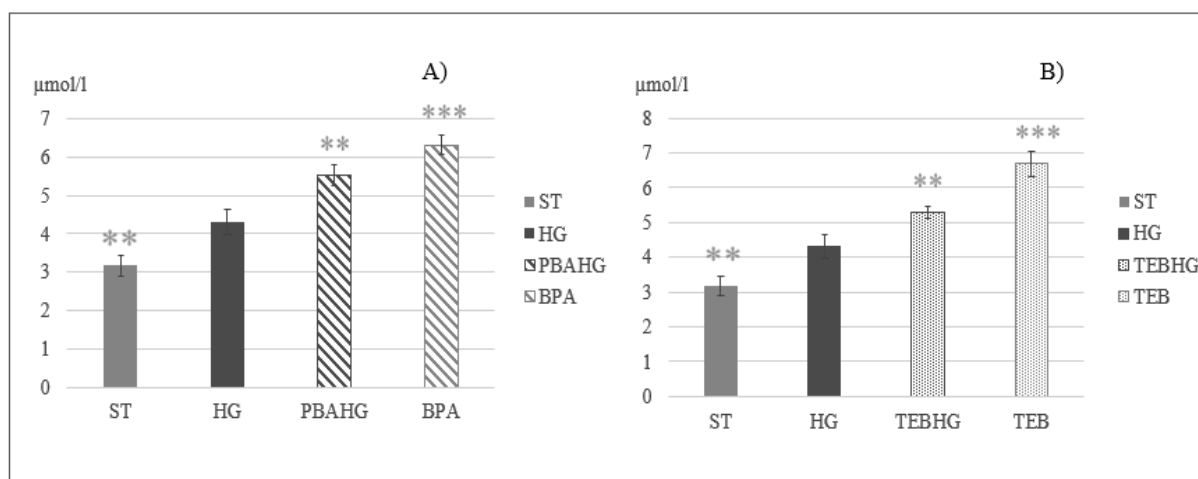


Figure n°08 : Effet de l'exposition aux polluants et des régimes expérimentaux sur la peroxydation lipidique (MDA exprimé en $\mu\text{mol/l}$).

Les résultats sont exprimés sous la forme de moyennes \pm SEM avec $n=5$

(A) : groupes Bisphénol A ; (B) : groupes Tébuconazole.

Les comparaisons ont été effectuées par rapport aux rats femelles du groupe hypergras (HG).

(** Différence très significative, *** Différence hautement significative).

3.3.2 Evaluation du pouvoir réducteur total au niveau plasmatique

Le pouvoir réducteur plasmatique a significativement diminué chez les groupes BPAHG, TEBHG, BPA ($p<0,01$) et chez le groupe TEB ($p<0,001$) par rapport à celui du groupe HG, inversement les rats femelles du groupe ST exposent un pouvoir réducteur plus élevé et très significatif ($p<0,01$) en le comparant au groupe HG. De manière similaire au résultat du dosage des taux des MDA, on distingue un pouvoir réducteur plasmatique altéré et significativement différent entre les groupes TEB vs TBHG ($542,63 \pm 77,83 \mu\text{mol/l}$ vs $393,82 \pm 18,71 \mu\text{mol/l}$) (Voir figure n°09). En revanche aucune différence significative n'a été remarquée entre les groupes BPA *versus* BPAHG ($533,30 \pm 27,22 \mu\text{mol/l}$ vs $566,54 \pm 36,32 \mu\text{mol/l}$).

Résultats et Discussion

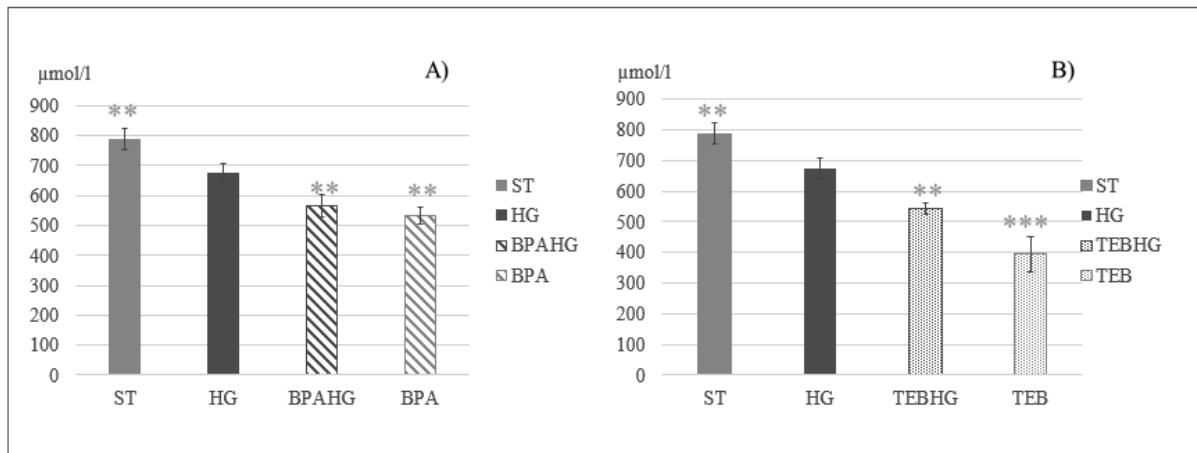


Figure n°09 : Effet de l'exposition aux polluants et des régimes expérimentaux sur le pouvoir réducteur total (exprimé en $\mu\text{mol/l}$).

(A) : groupes Bisphénol A ; (B) : groupes Tébuconazole.

Les comparaisons ont été effectuées par rapport aux rats femelles du groupe hypergras (HG).

** différence très significative, *** différence hautement significative ;

3.3.3 Evaluation de l'oxydation protéique au niveau plasmatique

Les résultats de l'évaluation de l'oxydation protéique au niveau plasmatique après 16 semaines de traitement, révèlent que les teneurs des protéines (SH) au niveau du plasma chez les groupes de rats femelles BPAHG, BPA, TEBHG et TEB sont significativement inférieures à celles du groupe HG. Toutefois, ce groupe présente une réduction hautement significative des taux des protéines à groupements SH évalués à $723,75 \pm 11,24 \mu\text{mol/l}$, en comparaison avec ceux trouvés chez le groupe des rats femelles sous régime standard (ST), celui-ci présente une valeur de $949,26 \pm 66,25 \mu\text{mol/l}$ (Voir la figure n°10). Les différences entre les groupes TEB *versus* TEBHG et les groupes BPA *versus* BPAHG demeurent non significatives, il va de même pour les groupes BPA *versus* TEB.

Résultats et Discussion

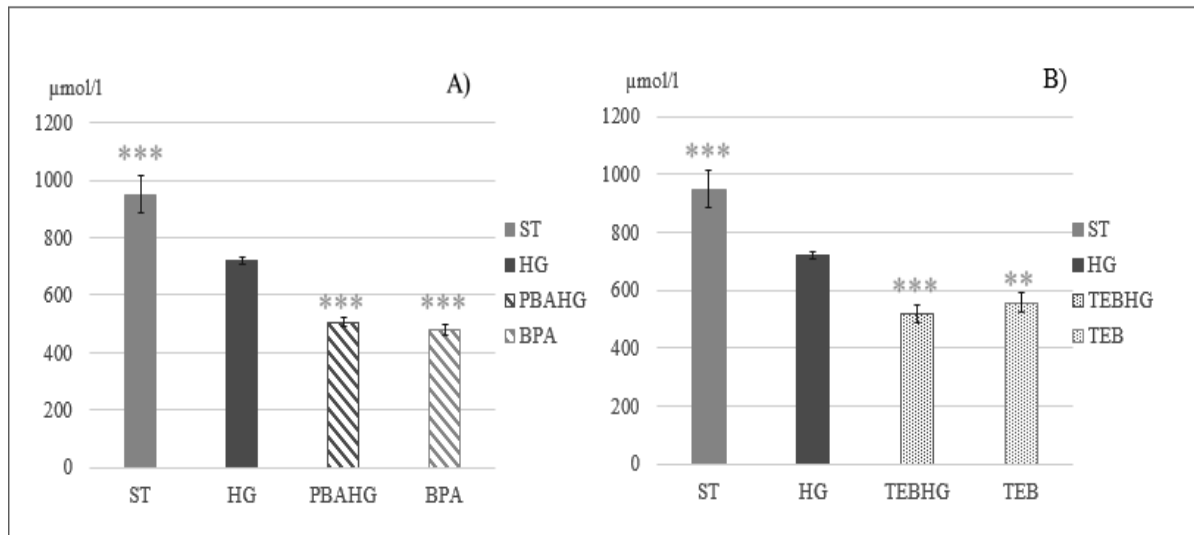


Figure n°10 : Effet de l'exposition aux polluants et des régimes expérimentaux sur les marqueurs oxydatifs protéiques (groupements SH plasmatiques exprimés en $\mu\text{mol/l}$)

(A) : groupes Bisphénol A ; (B) : groupes Tébuconazole.

Les comparaisons ont été effectuées par rapport aux rats femelles du groupe hypergras (HG).

** différence très significative, *** différence hautement significative

Les résultats de l'évaluation des paramètres oxydatifs issus de notre étude indiquent clairement que le régime hypergras génère un stress oxydatif. Ce dernier est reflété par une augmentation des taux des MDA, des teneurs des protéines oxydées et par une diminution du pouvoir réducteur total.

Il semblerait que le régime riche en graisse incite la production abusive des ERO (Espèces réactif d'oxygène) d'une part et l'amoindrissement de l'aptitude de défense antioxydante d'autre part. En effet, l'altération de la balance oxydant/antioxydant au cours de l'obésité provoque des dommages cellulaires, se traduisant, entre autre, par une augmentation de la peroxydation lipidique, l'oxydation des protéines et l'augmentation des dommages de l'ADN. L'ensemble de ces altérations conduit à l'induction d'un stress oxydant systémique (Demarchi *et al.*, 2013 ; Savini *et al.*, 2013 ; Bonnefont-Rousselot, 2014 ; Luo *et al.*, 2015 ; Marseglia *et al.*, 2015). En outre, un récent travail expérimental mené sur des souris rendues obèses par un régime hyperlipidique, dévoile que ce régime induit l'oxydation de l'albumine plasmatique et provoque une élévation des concentrations circulantes des marqueurs de la peroxydation lipidique. (Yamato *et al.*, 2007).

Dans un deuxième temps et comme indiqué antérieurement, l'exposition au Bisphénol A ou le tébuconazole associés à un régime hypergras accentuent le déséquilibre oxydants/antioxydants et ce en les comparant au groupe HG, mais le polluant à lui seul induit un impact négatif plus important sur les paramètres oxydatifs, cela peut être lié au pouvoir accumulateur du tissu adipeux. Il est effectivement prouvé dans certaines recherches que les protéines hépatiques notamment les

Résultats et Discussion

cytochromes P450A2 participent à la capture des polluants et pouvaient être redistribués vers le compartiment adipeux (**Emond *et al.*, 2006 ; Barouki., 2013**). D'autres études récentes ont démontrés que l'exposition orale au Bisphénol A à différentes doses diminuait les activités enzymatiques de la superoxyde dismutase (SOD), de la catalase (CAT) et les taux du glutathion réduit (GSH) chez les animaux de laboratoire, alors qu'elle augmentait le niveau des malondialdéhydes (**Hassan *et al.*, 2012 ; Kamel *et al.*, 2018 ; poormoosavi *et al.*, 2018 ; Acaroz *et al.*, 2019**). Ceci corrobore les résultats de **Hassan *et al.*, (2012)**, ces auteurs prouvent qu'une exposition croissante au BPA sera à l'origine d'une hépatotoxicité ainsi qu'une diminution des teneurs en GSH, en SOD et en glutathion peroxydase (GPX). Aussi, il a été démontré qu'une administration croissante du BPA par voie orale altère la fonction rénale par néphrotoxicité et diminue la teneur en GSH (**Kobroob *et al.*, 2018**).

Le tébuconazole quant à lui, induit un stress oxydatif dans le foie et les reins des rats. Une diminution de la teneur en GSH et l'augmentation de l'activité des enzymes antioxydants notamment la SOD et celle de la glutathion -S -transférase (GST) ont été constatées dans l'étude de **Yang *et al* (2018)**. Ce stress pourrait résulter de l'induction des enzymes du métabolisme des xénobiotiques, comme le cytochrome P450A2, ces dernières sont responsables de la production accrue d'espèces réactives de l'oxygène pendant le processus du bioactivation du tébuconazole. Le statut pro-oxydant généré ainsi entraîne donc une déplétion de la GSH et un recrutement des enzymes antioxydantes (**Sies, 2015**).

Parallèlement, dans une étude menée par **Benothmèn *et al.*, (2018)** sur des cellules HCTT116 (cellules tumorales humaines du colon), l'exposition de ces dernières au tébuconazole entraînait une peroxydation lipidique révélée par une importante augmentation des concentrations de malondialdéhyde (MDA) mais aussi une augmentation importante de l'activité des enzymes antioxydantes, particulièrement la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase (CAT), a été décelée en réponse à un stress exacerbé et généré par ce pesticide. Cette étude a aussi démontré l'effet cytotoxique et génotoxique dont ce pesticide est capable d'engendrer (**Schwarzbacherová *et al.*, 2015**). La production des radicaux libres entraîne des altérations biochimiques au niveau cellulaire, telles que l'apparition de cassures au niveau de l'ADN, ou des atteintes de l'intégrité de la membrane cellulaire par l'induction de la peroxydation lipidique et des altérations au niveau des protéines (**Moffarts *et al.*, 2005**). Les basses concentrations des marqueurs protéiques plasmatiques (SH) chez les rates des groupes HG, BPA, BPAHG, TEB, TEBHG indiquent, en effet, l'oxydation des protéines par les ERO engendrés suite au traitement des rates par les polluants et le régime hypergras. Ainsi avec la capacité anti oxydante dépassée, le stress oxydatif prend plus d'ampleur et mène de ce fait à

Résultats et Discussion

un dysfonctionnement cellulaire et des lésions tissulaires. Dans une étude effectuée par **Bensaad *et al.*, (2017)**, le tébuconazole augmentait les biomarqueurs de l'oxydation lipidique et protéique au niveau rénal mais diminuait l'activité antioxydante de la catalase. Selon des recherches effectuées sur des souris les teneurs de protéines carbonylées, marqueurs de l'oxydation protéique, dans le tissu adipeux étaient 2 à 3 fois plus élevées chez les souris obèses. Par contre, les concentrations en glutathions s-transférase GST était 3 à 4 fois plus basses chez ces animaux ce qui a entraîné l'augmentation des protéines modifiées par le 4-hydroxynonéanal (4-HNE), un aldéhyde très réactif issu de la peroxydation lipidique des AGPI n-6 (**Grimsrud *et al.*, 2007**).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

La consommation quotidienne d'un régime hypercalorique contribue à l'amplification de diverses maladies métaboliques telles que l'obésité et les maladies cardiovasculaires, cependant, d'autres éléments notamment les polluants chimiques de synthèse issus du développement intense de l'activité industrielle, à l'instar des perturbateurs endocriniens et certains pesticides, ont déjà été mis en cause dans de nombreuses maladies non-infectieuses. L'objectif de notre travail consiste à étudier l'impact de l'interaction entre les polluants environnementaux et le régime hypercalorique sur le métabolisme biochimique ainsi que la balance oxydative. Cette étude s'intéresse particulièrement à une exposition chronique et à des faibles doses, de l'ordre de la DJA, au Bisphénol A (BPA), un perturbateur endocrinien incontestable, ou au tébuconazole (TEB), tous deux introduits dans un régime hypercalorique pour mimer un scénario d'exposition réaliste. Dans ce but, des rats femelles de souche *Wistar*, ont été soumises un régime standard ou hypergras associés ou non au BPA (50 µg/kg/j) ou au TEB (30 µg/kg/j). Après 16 semaines d'exposition, les résultats obtenus révèlent que la consommation du régime hypergras (HG) favorise le développement de la masse adipeuse, une hausse de 25% a été constatée en comparaison avec le groupe des rats femelles soumises à un régime standard (groupe contrôle). Cependant, BPA et le TEB accentuent le développement de la masse graisseuse des rats femelles sous régime HG, celle-ci subit une augmentation de 39 % chez le groupe sous régime HG et exposé au Bisphénol A (BPAHG) et de 80 % chez le groupe des rats femelles sous le même régime et exposé au tébuconazole (TEBHG), *versus* le groupe contrôle. Aussi, des perturbations d'ordre biochimiques (sur la cholestérolémie, l'urémie et la glycémie) ont été mises en évidence chez les groupes exposés aux polluants avec ou sans régime HG. En effet, l'estimation des teneurs en cholestérol indiquent des différences très significatives entre le groupe TEB *versus* les groupes HG et BPAHG ($0,75 \pm 0,01$ g/l *versus* $0,62 \pm 0,04$ g/l ; $0,74 \pm 0,01$ g/l respectivement). En revanche, les rats femelles exposées au BPA présentent une augmentation significative du taux du glucose plasmatique en comparaison avec pratiquement tous les groupes expérimentaux (contrôle, HG TEB et TEBHG) à l'exception du groupe BPAHG. Les résultats de l'estimation des teneurs en urée révèlent une différence significativement très élevée ($p < 0,001$) chez les rats femelles des groupes BPA, TEB et TEBHG en les comparant à celles du groupe HG. On constate que les groupes exposés au BPA ou au TEB présentent des taux plus élevés en urée avec une différence hautement significative en comparaison avec le groupe contrôle. Aussi, nos résultats dévoilent un effet délétère remarquable, des polluants utilisés au cours de cette étude, sur la balance oxydative des rats femelles soumises au régime hypergras. Ceci est reflété par une augmentation des concentrations plasmatiques des MDA ainsi qu'une diminution significative du pouvoir réducteur et des marqueurs de l'oxydation protéiques plasmatiques (les groupements SH). En revanche, le polluant à lui seul induit un impact négatif et

Conclusion et perspectives

plus important sur les paramètres oxydatifs chez le groupe des rats femelles sous régime contrôle en comparaison avec les rats femelles du groupe HG.

L'ensemble de nos résultats indiquent que l'exposition chronique au BPA ou le TEB, seul ou associée au régime hypergras, et à une dose faible sensée être une dose journalière admissible, affecte l'homéostasie oxydative et influence les taux plasmatiques du cholestérol, de l'urée et du glucose, le TEB aurait un impact plus accentué sur ces paramètres. L'exposition chronique à ce pesticide et même à des doses tolérables, pourrait jouer un rôle dans l'apparition des complications et aggraver les conséquences associées aux maladies métaboliques. L'ensemble de ces résultats sont suffisamment convaincants pour tirer la sonnette d'alarme quant à l'utilisation abusive des perturbateurs endocriniens essentiellement les pesticides. Dans cette optique et dans la continuité de cette présente étude, il est fort intéressant d'envisager les perspectives suivantes :

- Evaluer l'impact du tébuconazole sur l'activité des enzymes antioxydantes et la glutathion-S-transférase.
- Evaluer l'influence du tébuconazole sur les paramètres hormonaux tels que les stéroïdes, afin de pouvoir apprécier l'effet perturbateur que ce pesticide peut avoir à une dose dite « sûre ».
- Explorer des voies de signalisation impliquées dans l'induction de l'hypertrophie du tissu adipeux (voies des adipokines et des cytokines inflammatoires, voie de l'insulino-résistance).

Références Bibliographiques

A

Acaroz U, Sinan Ince, Damla Arslan-Acaroz, Zeki Gurler, Hasan Huseyin Demirel, Ismail Kucukkurt, Abdullah Eryavuz, Recep Kara, Nuray Varol, Kui Zhu g. (2019). 'Bisphenol-A induced oxidative stress, inflammatory gene expression, and metabolic and histopathological changes in male Wistar albino rats: Protective role of boron', *Toxicology Research*. Royal Society of Chemistry, 8(2), pp. 262–269. doi: 10.1039/c8tx00312b.

Ailhaud G, Massiera F, Weill P, Legrand P, Alessandri, Guesnet P. (2006). Temporal changes in dietary fats : role of n-6 polyunsaturated fatty acids in excessive adipose tissue development and relationship to obesity. *Prog Lipid Res.* 187-1925.).

Alonso-Magdalena P, Quesada I, Nadal A. (2011). Endocrine disruptors in the etiology of type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol.* 7:346-53.

Arnaud Basdevant. (2006). L'obésité : origines et conséquences d'une épidémie, *Sciences médicales / Medical sciences* 562–569

A Health & Environment retrospective: concerns that talking about causes of cancer can cause cancer; the difficulties of defining “endocrine disruptor”; shedding light on the obesogen hypothesis; and more. (2013), <https://healthandenvironmentblog.wordpress.com/2013/08/14/a-health-environment-retrospective/>:04:09 pm.

B

Baillie-Hamilton PF. (2002). Chemical toxins: a hypothesis to explain the global obesity epidemic. *J Altern Complement Med,* 8:185-92.

Barouki R, Gluckman PD, Grandjean P, Hanson M, Heindel JJ. (2012). Developmental origins of non-communicable disease: Implications for research and public health'. *Environ Health.* 11 :42.

Barouki R. (2013). Interaction entre polluants environnementaux et obésité', *Cahiers de Nutrition et de Dietetique.* Societe francaise de nutrition, 48(3), pp. 123–128.

Ben Othmène Yousra, Intidhar Ben Salem, Hiba Hamdi, Emna Annabi, Salwa Abid- Essefi. (2018). « Communication orale N°3 : Implication du stress oxydatif dans la toxicité induite par le Tebuconazole in vivo ». In : 7èmes Journées Scientifiques de l'ATT EXPOSITION AUX FAIBLES DOSES ET AUX MELANGES. INTERACTION ET MODULATION DES EFFETS. Tunisie.

Références Bibliographiques

Ben Saad H, Kammoun I, Zeghal Kh M, Ben Amara I, Magné C, Hakik A. (2017). Effets du selenium sur le stress oxydant au niveau des reins de rats traités par le tebuconazole Effects of selenium on tebuconazole-induced nephrotoxicity in adult rats', pp. 35–42.

Benzie F, Strain J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay, Department of Health Sciences, Hong Kong Polytechnic University, Hung Hom, Kowloon, Hong Kong; and Human Nutrition Research Group, University of Ulster, Coleraine, Northern Ireland, United Kingdom

Bleich S, Cutler D, Murray C, Adams A. (2008). Why is the developed world obese ? *Ann Rev Public Health*, 29, 273-29 doi: 10.1146/annurev.publhealth.29.020907.090954.

Bonnefont-Rousselot. D. (2014). Obésité et stress oxydant. *Obésité* 9: 8-13.

C

Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, Burcelin. R. (2008). Changes in Gut Microbiota Control Metabolic Endotoxemia-Induced Inflammation in High-Fat Diet-Induced Obesity and Diabetes in Mice. *DIABETES*, 57: 1470-1481.

Cardenas J. Les principaux perturbateurs endocriniens 27 juin 2014. Dans Doctissimo <http://www.doctissimo.fr/html/dossiers/perturbateur-endocrinien/16032-perturbateur-endocrinien-liste.htm>.

Casals-Casas C, Desvergne B. (2011). Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption. *Annu Rev Physiol*, 73:135-62.

Chevalier N, Fénichel. P. (2015). Obésité, diabète de type 2 et perturbateurs endocriniens *Presse Med*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.lpm.2015.08.008>.

Chevalier N, Fénichel. P. (2017). Perturbateurs endocriniens : responsabilités dans l'obésité et le diabète de type 2 Vol. 11 - N°4.

Chevalier N. 2018. « Effets gonadiques des perturbateurs endocriniens ». In : Journées Nationales du DES d'Endocrinologie-Diabète et Maladies Métaboliques'. MCED, janvier 2018.

D

Demarchi E, Baldassari F, Bononi A, Wieckowski MR, Pinton P. (2013). Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases and Obesity: Role of p66Shc and Protein Kinase C. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 11 pages.

Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudice LC. (2009). Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev*, 30:293-342.

Ding S, Ying Fan, Nana Zhao, Huiqin Yang, Xiaolei Ye, Dongliang He, Xin Jin, Jian Liu, Chong Tian, Hongyu Li, Shunqing Xu, Chenjiang Ying. (2014). High-fat diet aggravates glucose homeostasis disorder caused by chronic exposure to bisphenol A', *Journal of Endocrinology*, 221(1), pp. 167–179.

E

EFSA – European Food Safety Authority. (2008). Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance tebuconazole, 176: 1-109.

Emond C, Birnbaum LS, DeVito MJ. (2006). Use of a physiologically based pharmacokinetic model for rats to study the influence of body fat mass and induction of CYP1A2 on the pharmacokinetics of TCDD. *Environ Health Perspect*;114(9):1394-400.

F

Faure P and Lafond J-L. Measurement of plasma sulfhydryl and carbonyl groups as a possible indicator of protein oxidation **In** *Analysis of Free Radicals in Biological Systems*. Favier AE, Cadet J, Kalyanaraman B, Fontecave M, Pierre J-L **Publisher** Birkhäuser Basel **1995, p 237-248.**

G

Garait B. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®, Université Joseph Fourier-Grenoble1, France.

Références Bibliographiques

Geyer HJ, Schramm KW, Scheunert I, Schughart K, Buters J, Wurst W, et al. (1997). Considerations on genetic and environmental factors that contribute to resistance or sensitivity of mammals including humans to toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzop-dioxin (TCDD) and related compounds. Part 1: genetic factors affecting the toxicity of TCDD. *Ecotoxicol Environ Saf*;36(3):213—30.

Golay A. (1998). The role of dietary fat in development of obesity *OCL* 5 : 205-207.

Grimsrud PA, Picklo MJ Sr, Griffin TJ, Bernlohr DA. (2007). Carbonylation of adipose proteins in obesity and insulin resistance: identification of adipocyte fatty acid-binding protein as a cellular target of 4-hydroxynonenal. *Mol Cell Proteomics.*, vol. 6,pp. 624-37.

H

Hassan Z K, Elobeid M A, Virk P, Omer S. A, Elamin M, Daghestani M. H and Alolayan E. M. (2012). Bisphenol A Induces Hepatotoxicity through Oxidative Stress in Rat Model *Oxid. Med. Cell. Longevity*, 6 :194829.

Hauner H. (2004). The new concept of adipose tissue function. *Physiology & Behavior.*, 83: 653-658.

Hue O, Marcotte J, Berrigan F, Simoneau M, Doré J, Marceau P et al. (2007). Plasma concentration of organochlorine compounds is associated with age and not obesity. *Chemosphere* ;67(7):1463-7(8).

Hugo ER, Terry D. Brandebourg, Jessica G. Woo, Jean Loftus, J. Wesley Alexander, Nira Ben-Jonathan1 et al. (2008). Bisphenol A at environmentally relevant doses inhibits adiponectin release from human adipose tissue explants and adipocytes. *Environmental health perspectives*, 116(12), pp. 1642–7.

J

Jamoussi H, Kacem A, Amrouch C, Kallel. L, Ben Rayana C, Blouza S. (2010). Adiponectinémie et composants du syndrome métabolique chez l'enfant et l'adolescent obèses', *Diabetes & Metabolism. Elsevier*, 36, p. A92.

Références Bibliographiques

Joshi S C, Nandan Gulati , Bhawana Sharma, Priyanka Sharma. (2016). Effects of Tebuconazole (A fungicide) on Reproduction of Male Rat', International Journal of Pharma Research and Health Sciences, 4(6), pp. 1489–1494.

Junien C, Gallou-Kabani C, Vigé A, Gross MS. (2005). Épigénomique nutritionnelle du syndrome métabolique. Médecine/Sciences. 21:396-404.

K

Kamel AH, Foad. MA, Moussa HM. (2018). The adverse effects of bisphenol A on male albino rats, The Journal of Basic and Applied Zoology. The Journal of Basic and Applied Zoology, 79(1).

Kelly T, Yang W, Chen CS, et al. (2008). Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. Int J Obes (Lond) 2008;32:1431-7.

Kjaerstad M.B, Taxvig C, Nellemann C, Vinggaard A.M. and Andersen H R. (2010). Endocrine disrupting effects in vitro of conazole antifungals used as pesticides and pharmaceuticals. Reprod. Toxicol. 30: 573-582.

Kohn. HI, Liversedge N. (1951). On a new aerobic metabolite whose production by brain is inhibited by apomorphine, emetine, ergotamine, epinephrine, and menadione. J Pharmacol Exp Ther 82 : 292-300. 87.

Kobroob A, Wachirasek Peerapanyasut, Nipon Chattipakorn, Orawan Wongmekiat. (2018). Damaging Effects of Bisphenol A on the Kidney and the Protection by Melatonin: Emerging Evidences from In Vivo and In Vitro Studies, Oxidative Medicine and Cellular Longevity, , pp. 1–15.

L

Lecorre L, Lydie Ivry-Del Moral, Philippe Besnard, Marie-Christine Chagnon. (2013). Effet obésogène du bisphénol A sur des souris C57Bl / 6 sous régime hyperlipidique & Obesogenic effect of bisphenol A in C57Bl / 6 mice on high fat diet, Pratiques psychologiques. Societe francaise de nutrition, 48(3), pp. 129–136.

Luo H, Wang X, Chen C, Wang J, Zou X, Li C, Xu Z, Yang Z, Shi. W, Zeng C. (2015). Oxidative Stress Causes Imbalance of Renal Renin Angiotensin System (RAS) Components and Hypertension in Obese Zucker Rats. Journal of the American Heart Association 4: 001559.

Références Bibliographiques

Lan H C, I-Wen Lin, Zhi-Jie Yang, Jyun-Hong Lin. (2015). Low-dose bisphenol A activates Cyp11a1 gene expression and corticosterone secretion in adrenal gland via the JNK signaling pathway, *Toxicological Sciences*, 148(1), pp. 26–34.

Laws S. C, Michelle Hotchkiss, Janet Ferrell, Saro Jayaraman, Lesley Mills, Walker Modic, Nicole Tinfo, Melanie Fraites, Tammy Stoker, and Ralph Cooper. (2009). Chlorotriazine herbicides and metabolites activate an ACTH-dependent release of corticosterone in male wistar rats, *Toxicological Sciences*, 112(1), pp. 78–87.

M

Magdelaine C. (2018). Le bisphénol A, perturbateur endocrinien, est interdit dans les contenants alimentaires, mais jusqu'à quand / notre-planete.info., https://www.notre-planete.info/actualites/3589bisphenol_A_interdiction_boites_conservees?

Matsuzawa Y. (2006). The metabolic syndrome and adipocytokines. *FEBS LETT*, 580(12): 2917-21.

Marmugi A, Ducheix S, Lasserre F, et al. (2012). Low doses of bisphenol A induce gene expression related to lipid synthesis and trigger triglyceride accumulation in adult mouse liver. *Hepatology* 55: 395-407.

Marseglia L, Manti S, D'Angelo G, Nicotera A., Parisi E, Rosa GD, Gitto E, Arrigo T. (2015). Oxidative Stress in Obesity: A Critical Component in Human Diseases. *International Journal of Molecular Science* 16: 378-400.

Mauduit C, Florin A, Amara S. (2006). Long-term effects of environmental endocrine disruptors on male fertility. *Gynecol Obstet Fertil*, 34:978-84.

Mauduit C, Florin A, Amara S, et al. (2006). Effets à long terme des perturbateurs endocriniens environnementaux sur la fertilité masculine. *Gynecol Obstet Fertil*, 34: 978-84.

Moffarts B, Kirschvink N, Pincemail J, Lekeux P. (2005). Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval, *Ann Méd Vét*, 149, 1–9.

Moser V.C, Barone S, Smialowicz R.J, Harris M.W, Davis B.J, Overstreet D, Mauney M, Chapin R.E. (2001). The effects of perinatal tebuconazole exposure on adult neurological, immunological, and reproductive function in rats. *Toxicol. Sci.* 62: 339-352.

Références Bibliographiques

N

Nadia Quignot, Robert Barouki, Laurianne Lesné, Emmanuel Lemazurier, Bernard Jégou. (2012). Mécanismes et enjeux de la perturbation endocrinienne, 4(March 2018), pp. 115–119.

Nalbonea, A. Cicolella b, S. Laot-Cabon. (2011). L'exposition humaine au bisphénol A : un facteur de risque environnemental des maladies métaboliques et cardiovasculaires, 3, 42—51.

Nalbone. G, André Cicolella et Sylvie Laot-Cabon. (2013). 'Perturbateurs endocriniens et maladies métaboliques : un défi majeur en santé publique Dans Santé Publique', (Vol. 25), pages 45-49.

P

Patton S, Kurtz G.W. (1951). 2-Thiobarbituric acid as a reagent for detecting milk fat oxidation. J Dairy Sci, 34: 669-74.

Poormoosavi S M, Najafzadehvarzi H, Behmanesh M A, Amirgholami R. (2018). Protective effects of *A sparagus officinalis* extract against Bisphenol A- induced toxicity in *Wistar* rats. Toxicol. Rep., 5, 427–433.

R

Ravussin E. (1995). Obesity in Britain. Rising trend may be due to "pathoenvironment. Lancet, 311:1569.

Revue de l'industrie agroalimentaire, salon professionnel de l'industrie agroalimentaire 24/25/26 Sept 2019, Dossier perturbateurs endocriniens : dans l'attente d'une liste officielle 14.11.18.<http://www.ria.fr/article/perturbateurs-endocriniens-dans-lattente-dune-liste-officielle-1,5,1933133724.html> l'heur de consultation à 11 h 24/06/2019.

Richmond W. (1973). Preparation and proprieties of a cholesterol oxudase from *Nocardia* sp. And its application to the enzymatic assay of total choleterol in serum. Clin. Chem. 19, 1350.

Rönn M, Joel Kullbergb, Helen Karlssonc, Johan Berglundb, Filip Malmbergd, Jan Örberge, Lars Lindf, Håkan Ahlströmb, P. Monica Linda. (2012). Bisphenol A exposure increases liver fat in juvenile fructose-fed Fischer 344 rats', Toxicology. Elsevier Ireland Ltd, pp. 1–8. doi: 10.1016/j.tox.2012.09.013.

Références Bibliographiques

Rubin BS, Murray MK, Damassa DA, et al. (2001). Perinatal exposure to low doses of bisphenol A affects body weight patterns of estrous cyclicity, and plasma LH levels. *Environ Health Perspect*, 109:675-80.

S

Savini I, Catani M.V, Evangelista D, Gasperi V, Avigliano L. (2013). Obesity-Associated Oxidative Stress: Strategies Finalized to Improve Redox State. *International Journal of Molecular Sciences*, 14: 10497-10538.

Schlienger J. (2014). Impact métabolique de l'exposition au bisphénol A : état des lieux', *Médecine Maladies Métaboliques*. Elsevier, 8(3), pp. 340–345.

Schwarzbacherová V, Katarína Šiviková, Monika Drážovská and Ján Dianovský. (2015). Evaluation of DNA damage and cytotoxicity induced by triazole fungicide in cultured bovine lymphocytes', *Caryologia*, pp. 233–238.

Searcy RL, Reardon JE, Foreman JA. A. (1967). New photometric method for serum urea nitrogen determination. *Amer J Med Technol*, 33:15-20.

Sies H. (2015). Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol.* 4:180–183.

Somm E, Schwitzgebe. Valérie M, Audrey Toulotte, Christopher R. Cederroth, Christophe Combescure, Serge Nef, Michel L. Aubert, Petra S. Hüppi. (2009). Perinatal exposure to bisphenol A alters early adipogenesis in the rat', *Environmental Health Perspectives*, 117(10), pp. 1549–1555.

T

Taxvig C, Hass U, Axelstad M, Dalgaard M, Boberg J, Andeasen H.R, Vinggaard A.M. (2007). Endocrine-disrupting activities in vivo of the fungicides tebuconazole and epoxiconazole. *Toxicol. Sci.* 100: 464-473.

Taxvig C, Vinggaard A.M, Hass U, Axelstad M, Metzdorff S, Nellemann C. (2008). Endocrine-disrupting properties in vivo of widely used azole fungicides. *Int. J. Androl.* 2: 170-177.

Tomlin C.D.S. (2003). *The Pesticide Manual*, 13th ed; British Crop Protection Council: Alton, U.K.

Toppari J, Larsen JC, Christiansen P, Giwercman A, Grandjean P, Guillette Jr LJ. (1996). Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environ Health Perspect*;104(4):741—803.

Références Bibliographiques

Trinder P. (1969). Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann. Clin. Biochem.* 6,24.

V

Vandenberg LN, Maffini MV, Sonnenschein C, Rubin BS, Soto AM. (2009). Bisphenol-A and the great divide: a review of controversies in the field of endocrine disruption. *Endocr Rev* 2009;30:75-95.

Vargesson N. (2009). Thalidomide-induced limb defects: resolving a 50-year-old puzzle. *Bioessays.* 31:1327-36.

Veyrat-Durebex A, Poher L, Caillon A, Rohner-Jeanreneaud F. (2011). Métabolisme des lipides et thermogénèse chez le rat Lou/C, un modèle de résistance au développement de l'obésité : implication de la protéine découplante 1 (UCP1) dans le tissu adipeux blanc. *Diabetes Metab* 37, A36.

Vincent H.K and Taylor A.G. (2006). Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *International Journal of Obesity* 30: 400–418.

W

Wei J, Sun X, Chen Y, et al. (2014). Perinatal exposure to bisphenol A exacerbates nonalcoholic steatohepatitis-like phenotype in male rat offspring fed on a high-fat diet. *Journal Endocrinol* 222:313-25.

Wild S, Roglic G, Green A, et al. (2004). Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care.* 27:1047-53.

Wit N, Derrien M, Bosch-Vermeulen H, Oosterink E, Keshtkar S, Duval C, den Bosch J.V, Kleerebezem M, Müller M, Roelof V.M. (2012). Saturated fat stimulates obesity and hepatic steatosis and affects gut microbiota composition by an enhanced overflow of dietary fat to the distal intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 303: 589-599.

Y

Yagi K. (1976). A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem Med Metab* 15 : 212-6.

Références Bibliographiques

Yamato M, Shiba T, Yoshida M, Ide T, Seri N, Kudou.W, Kinugawa S, Tsutsui H. (2006). Fatty acids increase the circulating levels of oxidative stress factors in mice with diet-induced obesity via redox changes of albumin. *Febs J.* 2007, vol. 274, pp. 3855-63.

Yang J. Di, Shing-Hwa Liu, Mei-Hsiu Liao, Ruei-Ming Chen, Pei-Yu Liu, Tzuu-Huei Ueng. (2018). Effects of tebuconazole on cytochrome P450 enzymes, oxidative stress, and endocrine disruption in male rats, *Environmental Toxicology*, 33(8), pp. 899–907

Youness M. (2013). Impact de la formulation et du mélange de deux pesticides (mésotrione et tébuconazole) sur leur biodégradation et la croissance de microorganismes. Autre. Université Blaise Pascal, 22378.

Z

Zhang-Hong. Ke, Jie-Xue Pan, Lu-Yang Jin, Hai-Yan Xu, Tian-Tian Yu, Kamran Ullah, Tanzil Ur Rahman, Jun Ren, Yi Cheng, Xin-Yan Dong, Jian-Zhong Sheng, He-Feng Huang. (2016). ‘Bisphenol A Exposure May Induce Hepatic Lipid Accumulation via Reprogramming the DNA Methylation Patterns of Genes Involved in Lipid Metabolism’, *Scientific Reports*. Nature Publishing Group, 6(July), pp. 1–13.

Ziegler O, Trebea A, Tourpe D, Bohme P, Quilliot D, Guerci B. (2007). Tissu adipeux viscéral : rôle majeur dans le syndrome métabolique. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 42: 85-9.

Annexes



Figure n°01 : les rats femelles du groupe standard dans des cages individuelles



Figure n°02 : les rats femelles du groupe hypergras dans des cages individuelles



Figure n°03 : les rats femelles du groupe hypergras + BPA dans des cages individuelles



Figure n°04 : les rats femelles du groupe standard + BPA dans des cages individuelles



Figure n°05 : les rats femelles du groupe hypergras + TEB dans des cages individuelles



Figure n°06 : les rats femelles du groupe standard + TEB dans des cages individuelles

**Annexe II Doses du TEB et du BPA ingérées par les rats femelles constituant
les différents groupes expérimentaux (TEB, TEBHG, BPA, BPAHG)**

Tableau n° 01 : Doses du tébuconazole ingérées par les rates des groupes TEBHG et TEB pendant toute la période expérimentale (16 semaines) exprimées en µg/kg/j

Semaines \ Groupes	TEBHG	TEB
Semaine 1	17,38	24,08
Semaine 2	15,85	27,88
Semaine 3	15,75	20,72
Semaine 4	16,78	21,20
Semaine 5	14,55	17,00
Semaine 6	12,98	17,85
Semaine 7	16,51	22,04
Semaine 8	25,40	29,14
Semaine 9	25,42	29,70
Semaine 10	25,74	29,53
Semaine 11	25,81	29,67
Semaine 12	25,43	29,11
Semaine 13	28,75	29,45
Semaine 14	25,60	29,48
Semaine 15	23,58	28,59
Semaine 16	24,93	28,37
Moyenne ± ES	21,28 ± 1,75	25,86 ± 1,18

Tableau n° 02 : Doses du Bisphénol A ingérées par les rates des groupes BPAHG et BPA pendant toute la période expérimentale (16 semaines) exprimées en µg/kg/j

Semaines \ Groupes	BPAHG	BPA
Semaine 1	28,18	43,59
Semaine 2	24,59	44,32
Semaine 3	28,26	41,67
Semaine 4	29,40	36,40
Semaine 5	25,14	31,99
Semaine 6	25,56	34,27
Semaine 7	28,95	35,84
Semaine 8	45,46	48,15
Semaine 9	46,14	49,57
Semaine 10	45,77	49,61
Semaine 11	42,89	49,94
Semaine 12	45,27	47,53
Semaine 13	46,31	48,90
Semaine 14	45,89	49,94
Semaine 15	42,99	49,25
Semaine 16	44,83	49,31
Moyenne ± ES	37,23 ± 1,32	44,39 ± 1,59



BIOLABO
www.biolabo.fr
FABRICANT :
BIOLABO SAS,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

GLUCOSE GOD-PAP

Liquide Prêt à l'emploi

Réactif pour le dosage quantitatif du glucose dans le plasma, le sérum et le liquide céphalorachidien (LCR) humains, ou les urines

REF LP80209	R1	2 X 200 mL	R2	1 x 5 mL
REF LP87809	R1	8 X 200 mL	R2	1 x 5 mL

CODE CNQ : HV

SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES

Tel : (33) 03 23 25 15 50

Fax : (33) 03 23 256 256



IVD USAGE IN VITRO

INTERET CLINIQUE (1) (6)

La concentration en glucose sanguin est maintenue à l'intérieur de limites relativement étroites dans différentes situations (absorption de nourriture, jeûne ou exercice intense) par des hormones régulatrices comme l'insuline, le glucagon ou l'épinéphrine. Le dosage du glucose est un des tests les plus fréquemment réalisés au laboratoire d'analyses médicales, conjointement avec d'autres tests de tolérance (épreuve d'hyperglycémie provoquée, glycémie post-prandiale...).

Le désordre du métabolisme des carbohydrates sanguins le plus couramment rencontré est l'hyperglycémie due au diabète mellitus. Une hyperglycémie supérieure à 3,0 g/L (16,5 mmol/L) peut conduire à une céto-acidose et un coma hyperosmolaire.

Toute hypoglycémie durable, inférieure à 0,30 g/L (1,7 mmol/L), est susceptible d'entraîner des lésions encéphaliques graves et irréversibles.

PRINCIPE (4) (5)

Méthode de Trinder. Le glucose est oxydé par la GOD en acide gluconique et H_2O_2 qui réagit en présence de POD avec le chloro-4-phénol et le PAP pour former une quinonéimine rouge. L'absorbance du complexe coloré, proportionnelle à la concentration en glucose dans le spécimen est mesurée à 500 nm.

REACTIFS

flacon R1 REACTIF DE TRAVAIL

Tampon phosphate	150	mmol/L
Glucose oxydase (GOD)	≥ 20 000	UI/L
Péroxydase (POD)	≥ 1000	UI/L
4-Amino-antipyrine (PAP)	0,8	mmol/L
Chloro-4-phénol	2	mmol/L

flacon R2 ETALON

Glucose	1	g/L (5,55 mmol/L)
---------	---	-------------------

PRECAUTIONS

Les réactifs BIOLABO sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro.

- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
- Utiliser des équipements de protection (blouse, gants, lunettes).
- Ne pas pipeter avec la bouche.
- En cas de contact avec la peau ou les yeux, rincer abondamment à l'eau et consulter un médecin.
- La fiche de données de sécurité peut être obtenue sur simple demande.
- Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.

Par mesure de sécurité, traiter tout spécimen comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

PREPARATION DES REACTIFS

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

STABILITE ET CONSERVATION

Stocker à l'abri de la lumière, dans le flacon d'origine bien bouché à 2-8°C.

- Réactif (flacon R1) et Etalon (flacon R2) : Transvaser la quantité nécessaire, bien reboucher et stocker à 2-8°C.
- En l'absence de contamination, les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret, s'ils sont utilisés et conservés dans les conditions préconisées.
- Ne pas utiliser le réactif (flacon R1) s'il est trouble ou si l'absorbance mesurée à 500 nm est > 0,400.
- Ne pas utiliser le réactif de travail après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.

Ce réactif doit être réfrigéré pendant le transport.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (2)

Sérum ou plasma :

Séparé rapidement des cellules sanguines pour prévenir la glycolyse. Si le fluorure est utilisé comme conservateur, une diminution de 0,09 g/L (0,5 mmol/L) est observée dans les deux premières heures, la concentration se stabilise ensuite.

Le glucose est stable dans le sérum et le plasma hépariné :

- 8 h à 25°C.
- 72 h à 2-8°C.

Le glucose est stable dans le plasma (fluorure de sodium ou iodoacétate) :

- 24 h à température ambiante.

LCR :

Analysé immédiatement après collecte pour éviter des résultats sous évalués. Conserver à -20°C.

Urines :

collectées en flacon opaque et conservées à 2-8°C. Conserver les urines de 24 h avec 5 mL d'acide acétique glacial ou 5 g de sodium benzoate ou fluorure.

INTERFERENCES (3)

- Acide ascorbique : Pas d'interférence jusqu'à 100 mg/L.
- Bilirubine totale : Interférence négative à partir de 200 mg/L.
- Bilirubine directe : Pas d'interférence.
- Hémolyse : Pas d'interférence.
- Lactescence : Interférence positive à partir de 6,26 g/L de triglycérides.

Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

1. Equipement de base du laboratoire d'analyses médicales,
2. Sérums de contrôle normaux et pathologiques.

Version : 29/07/2011

Made in France

Dernière version : www.biolabo.fr

CALIBRATION (7)

- Etalon du coffret (flacon R2) ou BIOLABO Multicalibrator REF 95015 traçable sur SRM 965a.
- Ou tout calibrant raccordé sur une méthode ou un matériau de référence.

La fréquence de calibration dépend des performances de l'analyseur et des conditions de conservation du réactif.

- Il est recommandé de calibrer à nouveau dans les cas suivants :
1. Changement du lot de réactif.
 2. Après opérations de maintenance sur l'analyseur.
 3. Les valeurs sortent des limites de confiance, même après utilisation d'un deuxième flacon de contrôle fraîchement reconstitué.

CONTRÔLE DE QUALITE

CODE CNQ : HV

- BIOLABO EXATROL-N Taux I REF 95010.
- BIOLABO EXATROL-P Taux II REF 95011.
- Tout autre sérum de contrôle titré pour cette méthode.
- Programme externe de contrôle de la qualité.

Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :

- Au moins un contrôle par série.
- Au moins un contrôle par 24 heures.
- Changement de flacon de réactif.
- Après opérations de maintenance sur l'analyseur.

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites, appliquer les actions suivantes :

1. Répéter l'opération en utilisant le même contrôle.
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, préparer un contrôle fraîchement reconstitué et répéter le test.
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un autre calibrant ou un calibrant fraîchement reconstitué et répéter le test.
4. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, calibrer à nouveau en utilisant un autre flacon de réactif et répéter le test.
5. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local.

INTERVALLES DE REFERENCE (2)

Dans le sérum ou le plasma :	g/L	[mmol/L]
Nouveau-né, 1 jour	0,40-0,60	[2,2-3,3]
Nouveau-né > 1 jour	0,50-0,80	[2,8-4,4]
Enfant	0,60-1,00	[3,3-5,6]
Adulte	0,74-1,06	[4,1-5,9]
60-90 ans	0,82-1,15	[4,6-6,4]
> 90 ans	0,75-1,21	[4,2-6,7]
Dans le LCR :	g/L	[mmol/L]
Enfant	0,60-0,80	[3,3-4,4]
Adulte	0,40-0,70	[2,2-3,9]
Dans les urines de 24 h :	0,01 à 0,15 g/L [0,1-0,8 mmol/L]	
	<0,5 g/24 h [<2,78 mmol/24 h]	

Il est recommandé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence pour la population concernée.

PERFORMANCES

Intra-série N = 30	Taux normal	Taux élevé	Inter-série N = 60	Taux normal	Taux élevé
Moyenne g/L	0,81	2,69	Moyenne g/L	0,81	2,84
S.D. g/L	0,01	0,02	S.D. g/L	0,01	0,03
C.V. %	1,3	0,67	C.V. %	1,2	1,06

Limite de détection : environ 0,10 g/L.

Sensibilité pour 1 g/L : environ 0,420 Abs. à 500 nm.

Comparaison avec réactif du commerce :

$$y = 0,969 x + 0,0133$$

$$r = 0,9984$$

LIMITE DE LINEARITE

La réaction est linéaire jusqu'à 5 g/L (28 mmol/L).

Au-delà, diluer le spécimen avec une solution NaCl à 9 g/L et refaire le dosage en tenant compte de la dilution dans le calcul du résultat. La limite de linéarité dépend du rapport de volume spécimen/réactif.

MODE OPERATOIRE (TECHNIQUE MANUELLE)

Ramener les réactifs et spécimens à température ambiante.

Mesurer dans des tubes à essais bien identifiés :	Blanc	Etalon	Dosage
Réactif	1 mL	1 mL	1 mL
Eau déminéralisée	10 µL		
Etalon		10 µL	
Spécimen			10 µL

Bien mélanger. Incuber 10 minutes à 37°C ou 20 minutes à température ambiante.

Lire les absorbances à 500 nm (460-560) contre le blanc réactif.

La coloration est stable 15-20 minutes à 37°C, puis décroît lentement.

Remarque : des procédures spécifiques sont disponibles pour les analyseurs automatiques. Contacter le service technique BIOLABO.

CALCUL

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :


$$\text{Résultat} = \frac{\text{Abs (Dosage)}}{\text{Abs (Etalon)}} \times \text{concentration de l'Etalon}$$

REFERENCES

- (1) TIETZ Textbook of clinical chemistry, 3^e Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 750-765.
- (2) Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 444-451
- (3) YOUNG D.S. Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests, 4th Ed. (1995) p. 3-274 à 3-294.
- (4) FARRANCE I., Clin. Biochem. reviews (1987), 8, p.55 à 68.
- (5) TRINDER P., Ann. Clin. Biochem. (1969), 6, p.24-27.
- (6) BERNARD S., Biochimie clinique, 2^{ème} éd., Edition Maloine Paris (1989), p.165-167
- (7) SRM : Standard Reference Material ®

UREE Méthode colorimétrique


Réactif pour le dosage quantitatif de l'urée dans le plasma et le sérum humains, ou les urines.



BIOLABO
www.biolabo.fr
FABRICANT :
BIOLABO SAS,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France


REF 80221 R1 1 x 125 mL R2 1 x 1,25 mL R3 1 x 31 mL R4 1 x 10 mL
REF 80321 R1 1 x 500 mL R2 1 x 5 mL R3 1 x 125 mL R4 1 x 10 mL

CODE CNQ : EV



SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES
Tel : (33) 03 23 25 15 50
Fax : (33) 03 23 256 256

IVD USAGE IN VITRO



INTERET CLINIQUE (1) (5)

Plus de 90% de l'urée est éliminée par les reins dans les urines. La mesure de la concentration plasmatique ou sérique en urée est souvent considérée comme un indicateur de la fonction rénal. Cependant certains facteurs non rénaux influencent également la concentration en urée : l'urémie est augmentée, entre autre, dans les cas de catabolisme accéléré des protéines, brûlures, traumatismes, infarctus du myocarde... Le taux d'urée est abaissé au stade terminal de grande insuffisance hépatique et s'accompagne alors d'une augmentation de l'ammoniémie. Le taux d'urée est généralement étudié conjointement au taux de créatinine (ratio urée/créatinine) pour affiner le diagnostic d'une azotémie post-rénale ou pré-rénale.

PRINCIPE (4)

Méthode enzymatique et colorimétrique basée sur l'action spécifique de l'uréase qui hydrolyse l'urée en ions ammonium et carbonate. Les ions ammonium forment ensuite avec le chlore et le salicylate un complexe coloré bleu-vert. L'intensité de coloration, proportionnelle à la concentration en urée dans le spécimen, est mesurée à 600 nm.

REACTIFS

flacon R1	SALICYLATE		
Salicylate		31	mmol/L
Nitroprussiate		1,67	mmol/L
flacon R2	UREASE		
Uréase		≥ 15	KUI/L
flacon R3	REACTIF ALCALIN		
Sodium hypochlorite		7	mmol/L
Hydroxyde de sodium		62	mmol/L
Avant dilution : XI, R36/38, irritant pour la peau et les yeux			
Après dilution : néant			
S24-25-26-28 : Eviter le contact avec la peau et les yeux. En cas de contact, rincer abondamment à l'eau claire.			
flacon R4	ETALON		
Urée 0,40 g/L (6,66 mmol/L)			

PRECAUTIONS

Les réactifs BIOLABO sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro.

- Utiliser des équipements de protection (blouse, gants, lunettes).
- Ne pas pipeter avec la bouche.
- En cas de contact avec la peau ou les yeux, rincer abondamment à l'eau et consulter un médecin.
- Les réactifs contiennent de l'azide de sodium (concentration < 0,1%) qui peut réagir avec les métaux tel que le cuivre ou le plomb des canalisations. Rincer abondamment.
- La fiche de données de sécurité peut être obtenue sur simple demande.
- Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.

Par mesure de sécurité, traiter tout spécimen comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

PREPARATION DES REACTIFS

Dans un flacon R1 (Salicylate), ajouter le contenu d'un flacon R2 (Uréase). Mélanger par retournements lents.

Réactif alcalin (flacon R3) :
Procédure n°1 et n°2 (manuelle) : Diluer (1+3) avec de l'eau déminéralisée.
Procédure n°3 (manuelle ou automatique) : Prêt à l'emploi

Etalon (flacon R4) : transvaser la quantité nécessaire, bien reboucher le flacon et stocker à 2-8°C.

STABILITE ET CONSERVATION

Stocker à 2-8°C, dans le flacon d'origine bien rebouché et à l'abri de la lumière.

- Avant ouverture, les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret, s'ils sont utilisés et conservés dans les conditions préconisées.
- Après reconstitution, le réactif de travail (R1+R2) est stable 1 mois en l'absence de contamination.
- Après ouverture et en l'absence de contamination, le réactif alcalin (flacon R3) dilué 1/4 est stable 3 mois.
- Après ouverture, le contenu du flacon R4 est stable au moins 3 mois en l'absence de contamination.

Ne pas utiliser les réactifs s'ils sont troubles ou si l'absorbance du blanc à 600 nm est > 0,100 contre de l'eau déminéralisée.

Ne pas utiliser le réactif de travail après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (2)

Sérum non hémolysé ou plasma hépariné. Eviter les anticoagulants contenant des ions fluorure ou ammonium qui interfèrent avec le dosage.

L'urée est stable dans le sérum ou le plasma :

- 24 h à température ambiante.
- plusieurs jours à 2-8°C.
- au moins 2 à 3 mois congelé.

Urines de 24 h : diluer (1+19) avec de l'eau déminéralisée avant dosage.

L'urée est stable dans les urines :

- 4 jours à 2-8°C.

Pour une meilleure conservation, ajouter un antibactérien (Thymol).




INTERFERENCES (3)

Pas d'interférence des substances testées (acide ascorbique, bilirubine, triglycérides et hémoglobine) avec le dosage.

Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

1. Equipement de base du laboratoire d'analyses médicales.
2. Sérums de contrôle normaux et pathologiques.

   Suffisant pour diluer avec

CALIBRATION

- Etalon du coffret (flacon R4) ou BIOLABO Multicalibrator REF 95015 traçables sur SRM 909b.
- Ou tout calibrant raccordé sur une méthode ou un matériau de référence.

La fréquence de calibration dépend des performances de l'analyseur et des conditions de conservation du réactif.

Il est recommandé de calibrer à nouveau dans les cas suivants :

1. Changement du lot de réactif.
2. Après opérations de maintenance sur l'analyseur.
3. Les valeurs de contrôle obtenues sortent des limites de confiance, même après utilisation d'un deuxième flacon de sérum de contrôle fraîchement reconstitué.

CONTROLE DE QUALITE**CODE CNQ: EV**

- BIOLABO EXATROL-N Taux I REF 95010.
- BIOLABO EXATROL-P Taux II REF 95011.
- Tout autre sérum de contrôle titré pour cette méthode.
- Programme externe de contrôle de la qualité.

Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :

- Au moins un contrôle par série.
- Au moins un contrôle par 24 heures.
- Changement de flacon de réactif.
- Après opérations de maintenance sur l'analyseur.

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites de confiance, appliquer les actions suivantes :

1. Répéter l'opération en utilisant le même contrôle.
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, préparer un sérum de contrôle fraîchement reconstitué et répéter le test.
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un autre calibrant ou un calibrant fraîchement reconstitué et répéter le test.
4. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, calibrer à nouveau en utilisant un autre flacon de réactif et répéter le test.
5. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local.

INTERVALLES DE REFERENCE (2)

Dans le sérum ou le plasma	g/L	[mmol/L]
Cordon	0,45-0,86	[7,5-14,3]
Prématuré	0,06-0,54	[1,1-8,9]
< 1 an	0,09-0,41	[1,4-6,8]
Enfant	0,11-0,39	[1,8-6,4]
18-60 ans	0,13-0,43	[2,1-7,1]
60-90 ans	0,17-0,49	[2,9-8,2]
> 90 ans	0,21-0,66	[3,6-11,1]
Dans les urines	26-43 g/24 h	[0,43-0,71 mol/24 h]

Il est recommandé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence pour la population concernée.

PERFORMANCES (Procédure n°1)

Intra-série N = 20	Taux moyen	Taux élevé	Inter-série N = 20	Taux moyen	Taux élevé
Moyenne g/L	0,40	1,416	Moyenne g/L	0,35	1,11
S.D. g/L	0,008	0,017	S.D. g/L	0,016	0,034
C.V. %	1,89	1,17	C.V. %	4,5	3,1

Limite de détection : environ 0,1 g/L

Comparaison avec réactif de la concurrence :

$$y = 0,9816 x + 0,0087$$

$$r = 0,9961$$

	Sensibilité pour 1 g/L à 600 nm
Procédure n°1	Environ 0,400 abs
Procédure n°2	Environ 0,800 abs
Procédure n°3	Environ 0,700 abs

Note : la sensibilité est plus grande pour des longueurs d'onde

LIMITE DE LINEARITE

Procédure n°1 et n°3 : linéaire jusqu'à 2,5 g/L (41,7 mmol/L).
Procédure n°2 : linéaire jusqu'à 1,25 g/L (20,9 mmol/L).

Au-delà, diluer le spécimen avec une solution NaCl à 9 g/L et refaire le dosage en tenant compte de la dilution dans le calcul du résultat. La limite de linéarité dépend du rapport de dilution spécimen/réactif.

MODE OPERATOIRE (TECHNIQUE MANUELLE)

Ramener les réactifs et spécimens à température ambiante.

Procédure n°1 (alcalin dilué)

	Blanc	Etalon	Dosage
Mesurer dans des tubes à essai	1 mL	1 mL	1 mL
Réactif de travail (R1 + R2)	5 µL		
Eau déminéralisée		5 µL	
Etalon			5 µL
Spécimen (Remarque 1)			5 µL
Mélanger et laisser 4 minutes à température ambiante ou 2 minutes à 37°C			
Réactif alcalin (flacon R3) dilué ¼	1 mL	1 mL	1 mL
Mélanger. Laisser 8 minutes à température ambiante ou 5 minutes à 37°C. Lire les absorbances à 600 nm (590-610) contre le blanc. La coloration due à la réaction est stable 2 heures.			

Procédure n°2 (alcalin dilué)

	Blanc	Etalon	Dosage
Mesurer dans des tubes à essai	1 mL	1 mL	1 mL
Réactif de travail (R1 + R2)	10 µL		
Eau déminéralisée		10 µL	
Etalon			10 µL
Spécimen (Remarque 1)			10 µL
Mélanger et laisser 4 minutes à température ambiante ou 2 minutes à 37°C			
Réactif alcalin (flacon R3) dilué ¼	1 mL	1 mL	1 mL
Mélanger. Laisser 8 minutes à température ambiante ou 5 minutes à 37°C. Lire les absorbances à 600 nm (590-610) contre le blanc. La coloration due à la réaction est stable 2 heures.			

Procédure n°3 (alcalin PUR)

	Blanc	Etalon	Dosage
Mesurer dans des tubes à essai	1 mL	1 mL	1 mL
Réactif de travail (R1 + R2)	5 µL		
Eau déminéralisée		5 µL	
Etalon			5 µL
Spécimen (Remarque 1)			5 µL
Mélanger et laisser 4 minutes à température ambiante ou 2 minutes à 37°C			
Réactif alcalin PUR (flacon R3)	250 µL	250 µL	250 µL
Mélanger. Laisser 8 minutes à température ambiante ou 5 minutes à 37°C. Lire les absorbances à 600 nm (590-610) contre le blanc. La coloration due à la réaction est stable 2 heures.			

Remarques :

1. Sérum, plasma ou urines diluées (1+19) dans l'eau déminéralisée.
2. Des procédures spécifiques sont disponibles pour les analyseurs automatiques. Contacter le service technique BIOLABO.
3. Le test peut être aussi réalisé à 578 nm. Dans ce cas, la linéarité avec la Procédure n°2 est portée à 3 g/L.

CALCUL

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

Sérum et plasma :

$$\text{Résultat} = \frac{\text{Abs (Dosage)}}{\text{Abs (Etalon)}} \times \text{concentration de l'Etalon}$$

Urines diluées (1+19) : Multiplier le résultat par 20 (facteur de dilution).

REFERENCES

- (1) TIETZ N.W. Text book of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 1239-1241.
- (2) Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 1096-1099.
- (3) YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests, 4th Ed. (1990) p. 3-599 à 3-609
- (4) SEARCY R.L., REARDON J.E., FOREMAN J.A., Amer. J. Méd. Techn. 1967, 33, 15-20
- (5) Bernard S. Bioch. clin. Diagnostics médicaux chirurgicaux 2^{ème} éd. p.143-144. Ed. Maloine PARIS (1989)

Biomaghreb



PRESENTATION

Réf. 20111, (360 Tests) Réf. 20115, (600 Tests) Réf. 20112 (120 Tests) Réf. 20118 (600 Tests)
 R1: 3 x 120 ml R1 : 6 x100 ml R1 : 4 x 30 ml R1 : 5 x 120 ml
 R2: 3 flacons (lyoph) R2 : 6 flacons (lyoph) R2 : 4 flacons (lyoph) R2 : 5 flacons (lyoph)
 R3: 1 x 5 ml R3 : 2 x 5 ml R3 : 1x 4ml R3 : 2x 5ml

CHOLESTEROL

Test enzymatic colorimétrique
(CHOD- PAP)

PRINCIPE

Le cholestérol est mesuré après hydrolyse enzymatique puis oxydation. L'indicateur quinoneimine est formé à partir du peroxyde d'hydrogène et du amino 4 antipyrine en présence de phénol et de peroxydase.

Détermination enzymatique selon les réactions suivantes :

Cholestérol estérase
 Esters de cholestérol + H₂O ---->Cholestérol+Acides gras

Cholestérol oxydase
 Cholestérol + O₂ ----->Cholestène- 4-one - 3 + H₂O₂
 Peroxydase

H₂O₂ + Phénol + Amino- 4 - antipyrine ----> Quinoneimine rose

La quantité de quinoneimine formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol.

REACTIFS

Réactif 1	Pipes pH 6.9	90 mmol/l
Solution tampon	Phénol	26 mmol/l
Réactif 2	Cholestérol oxydase	300 U/l
	Peroxydase	1250 U/l
	Cholestérol esterase	300 U/l
	Amino-4-antipyrine	0.4 mmol/l
Réactif 3		200 mg/dl
Standard		2 g/l
		5.17 mmol/l

PREPARATION ET STABILITE

Dissoudre le contenu d'un flacon de R2 avec un flacon de tampon R1.

Le réactif de travail est stable : 1 mois à 20 - 25°C
 4 mois à 2 - 8°C

ECHANTILLONS

Sérum

Plasma recueilli sur héparine

MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde :505 nm (500 - 550)

Température :37°C

Cuve :1 cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	--	10 µl	--
Echantillon	--	--	10 µl
Réactif de travail	1 ml	1 ml	1 ml

Mélanger, lire les densités optiques après une incubation de 5 min. à 37° C.
 La coloration est stable 30 minutes.

CALCUL

D.O. Echantillon
 Cholesterol = $\frac{\text{D.O. Echantillon}}{\text{D.O. Standard}} \times n$

mg/dl : n = 200

g/l : n = 2

mmol/l : n = 5,17

LINÉARITÉ

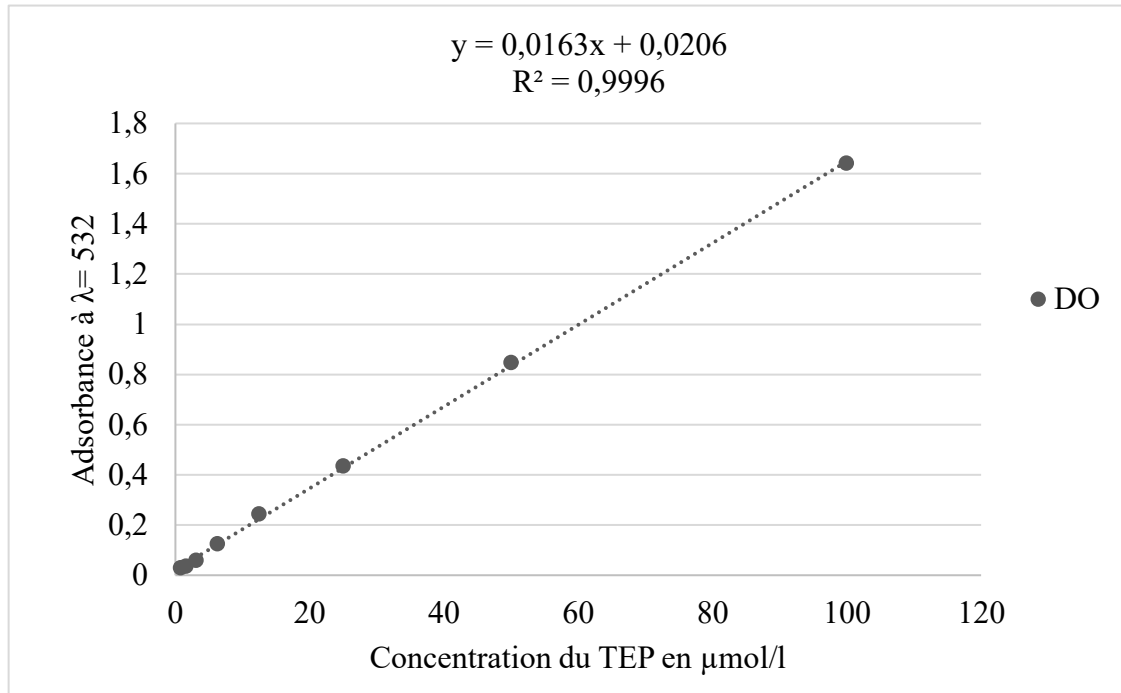
La méthode est linéaire jusqu'à 6 g/l (600 mg/dl - 15.4 mmol/l).
 Si la concentration en cholestérol est supérieure à 6 g/l, diluer l'échantillon au 1/2 avec une solution de NaCl à 9 g/l et refaire le test. Multiplier le résultat par 2.

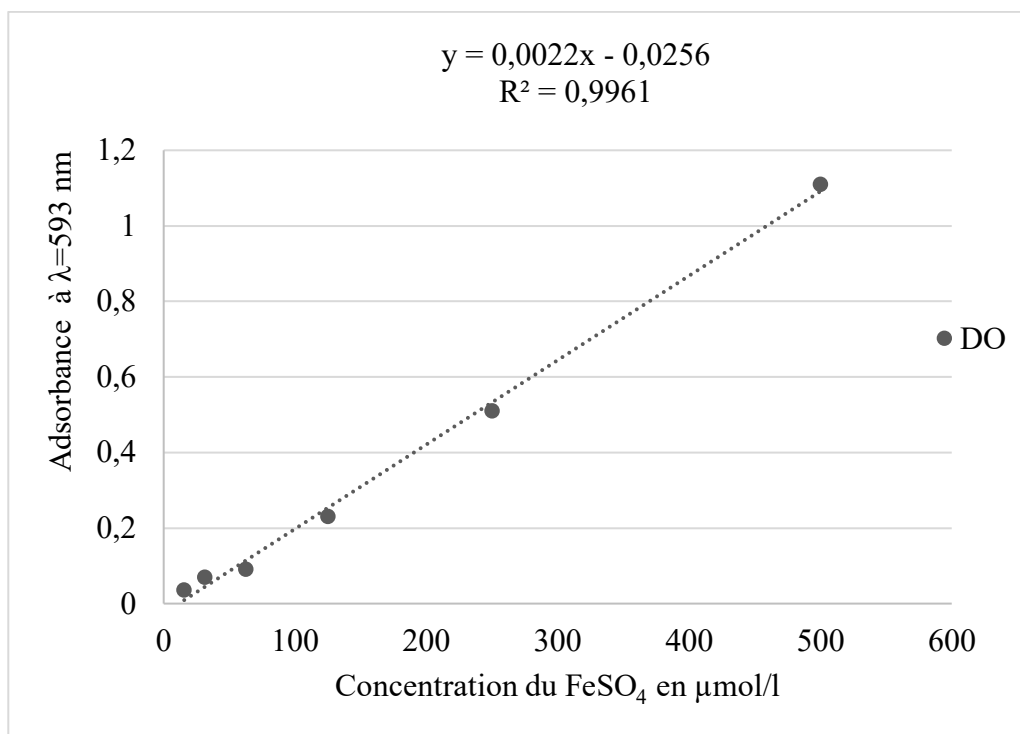
VALEURS USUELLES

Sérum, plasma	3,6 à 5,7 mmol/l
	1,4 à 2,2 g/l
	140 à 220 mg/dl

BIBLIOGRAPHIE

Trinder P., Ann. Clin. Biochem. 6, 24 (1969)
 Richmond, Clin. Chem. 19, 1350 (1973)
 Fasce C.F., Clin. Chem. 18901 (1982)

Figure n° 07 : Courbe d'étalonnage de TEP en $\mu\text{mol/l}$

Figure n°08 : Courbe d'étalonnage du FeSO_4 en $\mu\text{mol/l}$

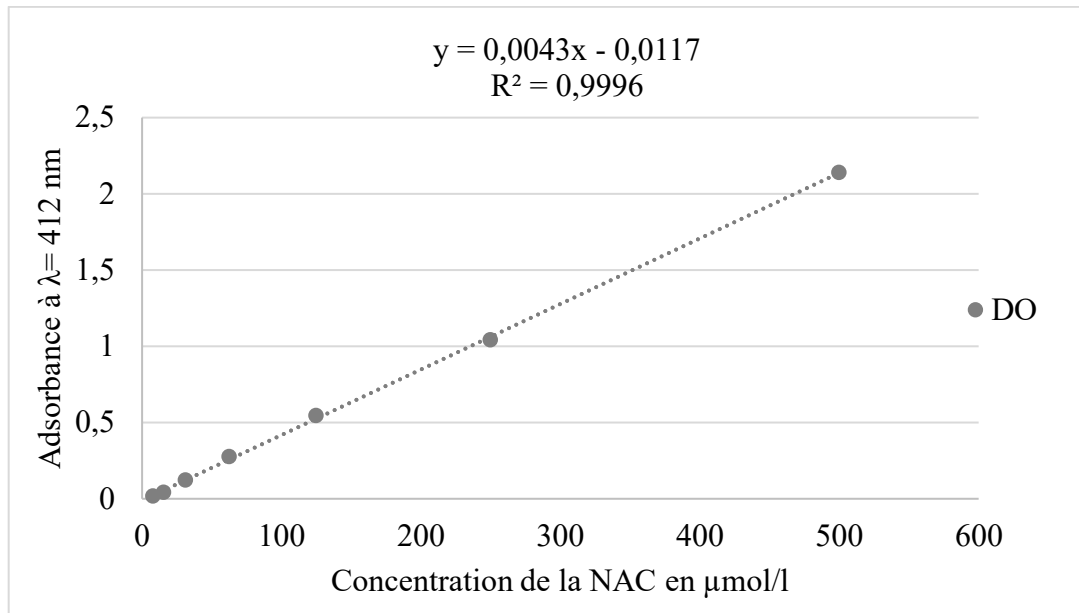


Figure n°09 : Courbe d'étalonnage de la NAC en $\mu\text{mol/l}$

XIII.1. Pour la réalisation du dosage des protéines oxydées (groupements SH)

XIII.1.1. Préparation des tampons phosphate à 0.2 M et 0.05 M

11,411 g de $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	11 ml
76,804 g de $\text{H}_2\text{KO}_4\text{P}^-$	189 ml

a- TP phosphate à 0.2 M :

Ajuster la solution à pH 8

✓ Conservation à 4°C pendant 1 mois

b- TP phosphate à 0.05 M :

2,85 g de $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	11 ml
1,701 g de $\text{H}_2\text{KO}_4\text{P}^-$	189 ml

Ajuster la solution à pH 8

✓ Conservation à 4°C pendant 1 mois

EDTA	0,037 g
------	-------	---------

XIII.1.2. Réactif d'ELLMAN

DTNB	0,060 g
Tampon Phosphate à 0,2 M	15 ml

Solution de la NAC (N-acetyl-cystéine à 1mM)

NAC	0,0163 g
Eau distillée	100 ml

XIII.2. Pour la réalisation du dosage du pouvoir réducteur

XIII.2.1. Préparation de tampon acétate a 30 mmol

Acétate de sodium	0,24 g
Eau distillée	100 ml

La solution est ajustée à pH 3,6 en ajoutant 1,6 ml de l'acide acétique glacial.

XIII.2.2. Préparation de tampon FeCl₃ à 20 mmol

FeCl ₃	0,324 g
Eau distillée	100 ml

XIII.2.3. Préparation de tampon FeSO₄

FeSO ₄	2,78 g
Eau distillée	100 ml

XIII.2.4. Préparation de tampon TPTZ à 8 mmol

TPTZ	0,5 g
HCL	20 ml

XIII.2.5. Préparation de HCL à 36 mmol

HCL (37%)	750 µl
Eau distillée	250 ml

XIII.2.6. Réactif FRAP

Acétate	75 ml
TPT Z	7,5 ml
FeCl ₃	7,5 ml

XIII.3. Pour la réalisation du dosage de la peroxydation lipidique

XIII.3.1. Préparation du tampon TBARS

TBA	0,375 g
BHT	0,01 g
TCA	20 g
HCL (1N)	25ml
Ajuster à 100 ml d'eau distillé		

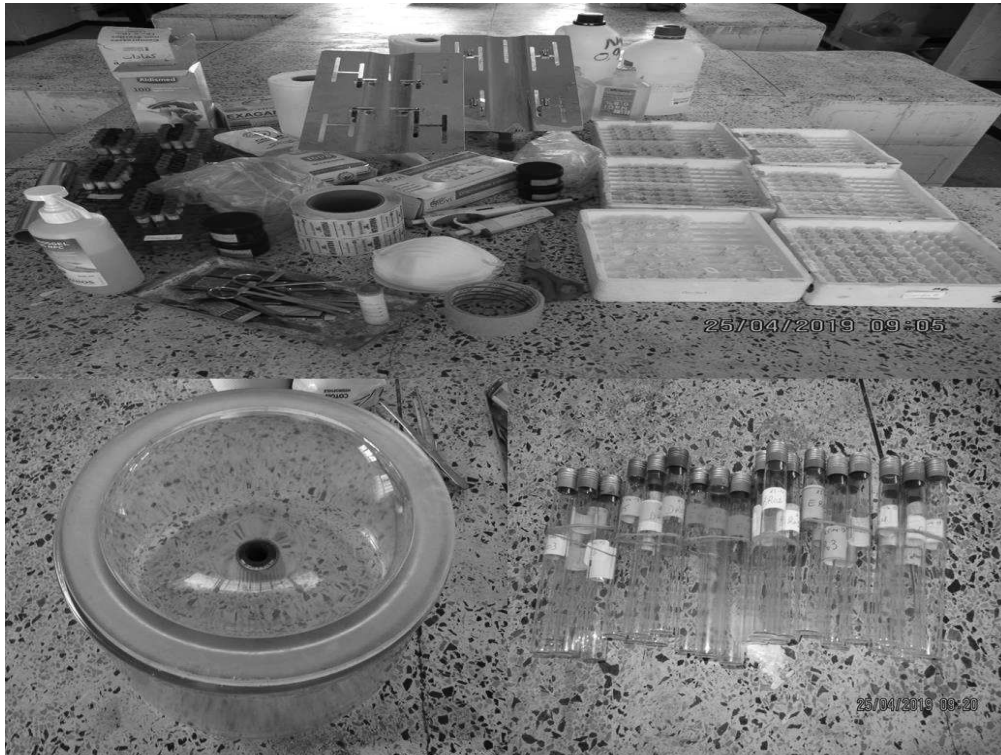


Figure n° 10 : Matériel utilisé lors du sacrifice

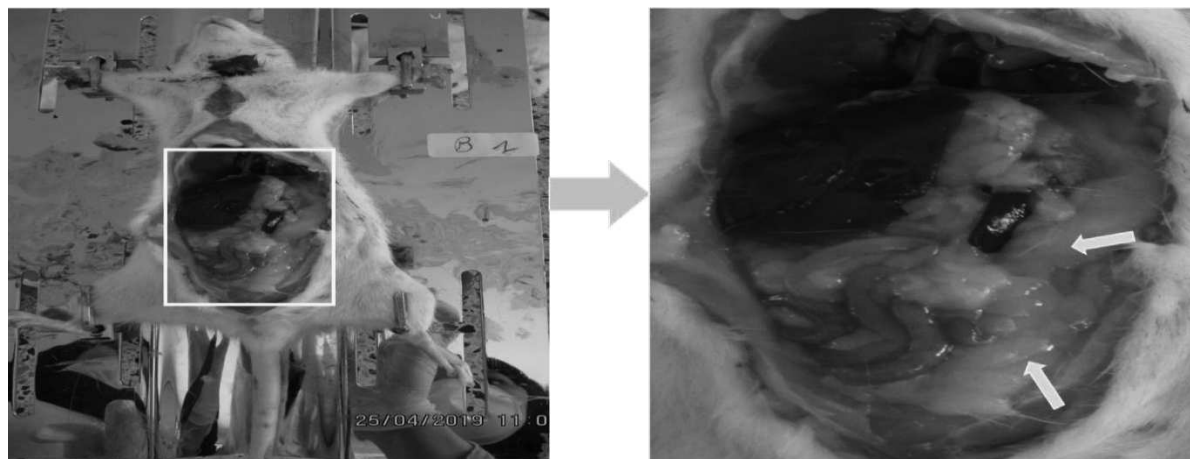


Figure n°11 : Impact du régime hypergras sur la prolifération du tissu adipeux
(groupe HG)

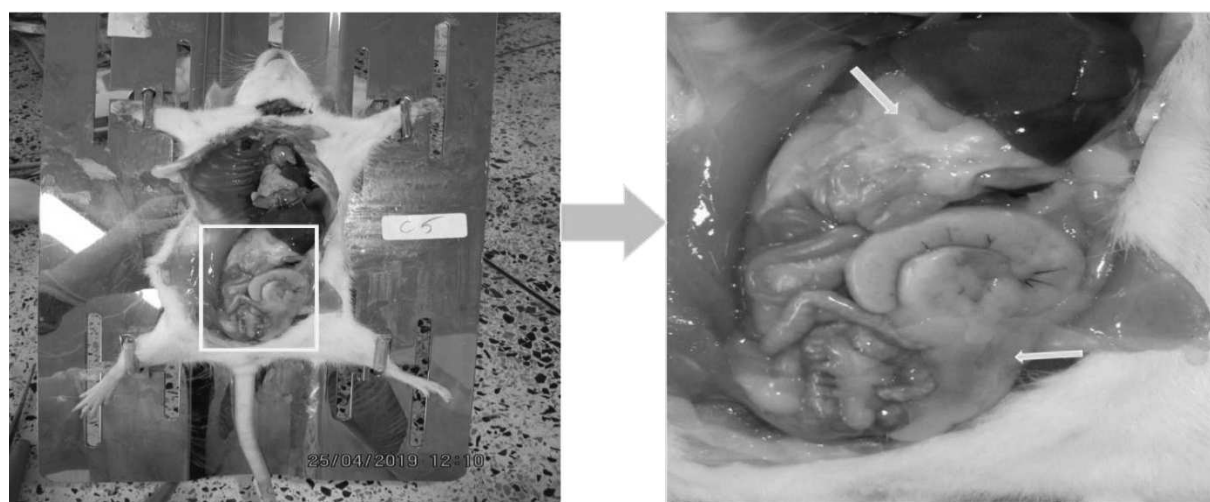


Figure n°12 : Impact du régime hypergras sur la prolifération du tissu adipeux
(groupe BPAHG)

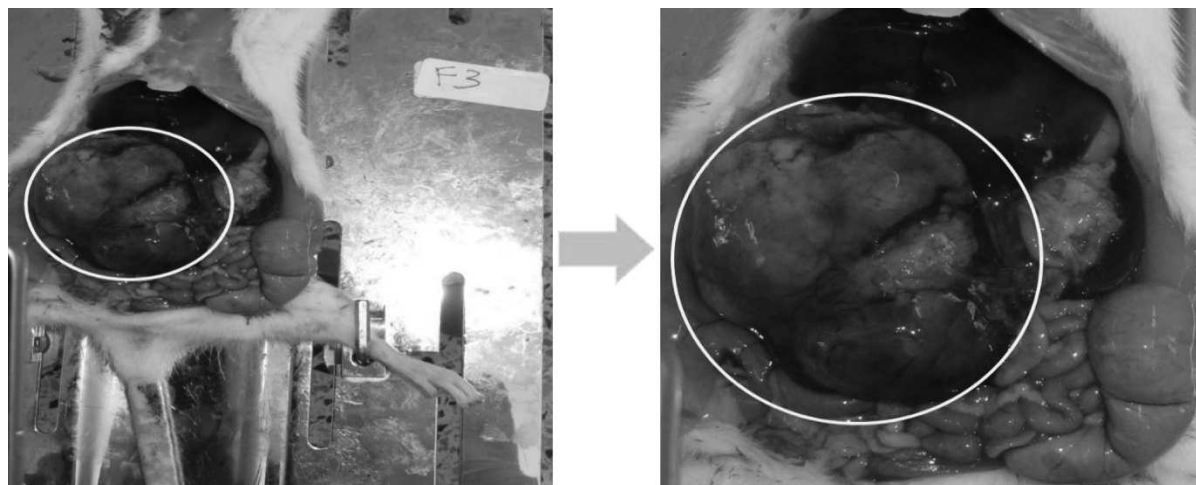


Figure n°13 : Lésion rénale due à l'exposition au tébuconazole ($30\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ chez l'individu n°3 du groupe TEB

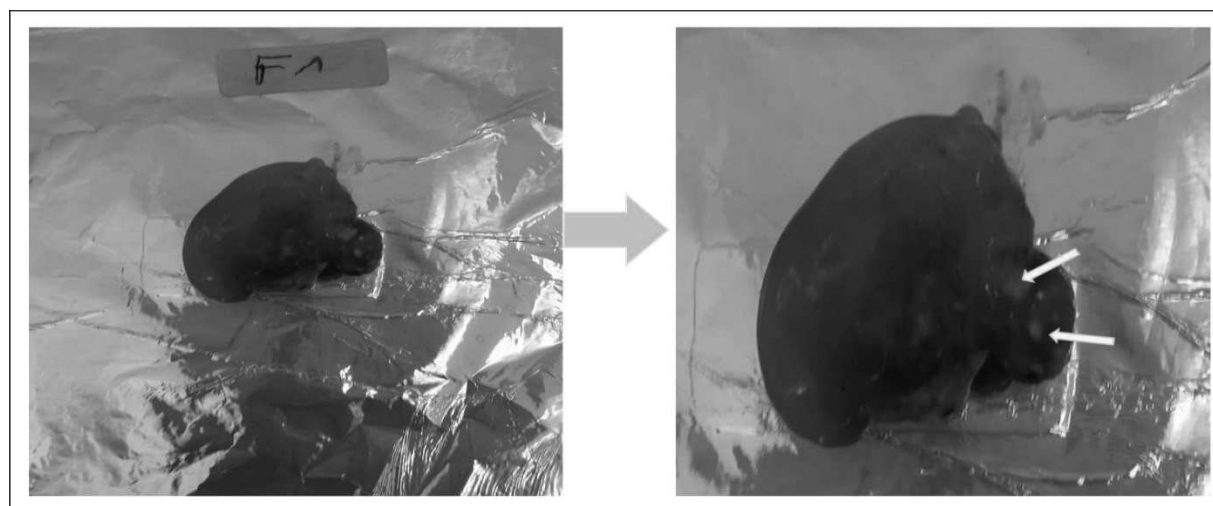


Figure n°14 : Lésion hépatique due à l'exposition au tébuconazole ($30\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ chez l'individu n°1 du groupe TEB

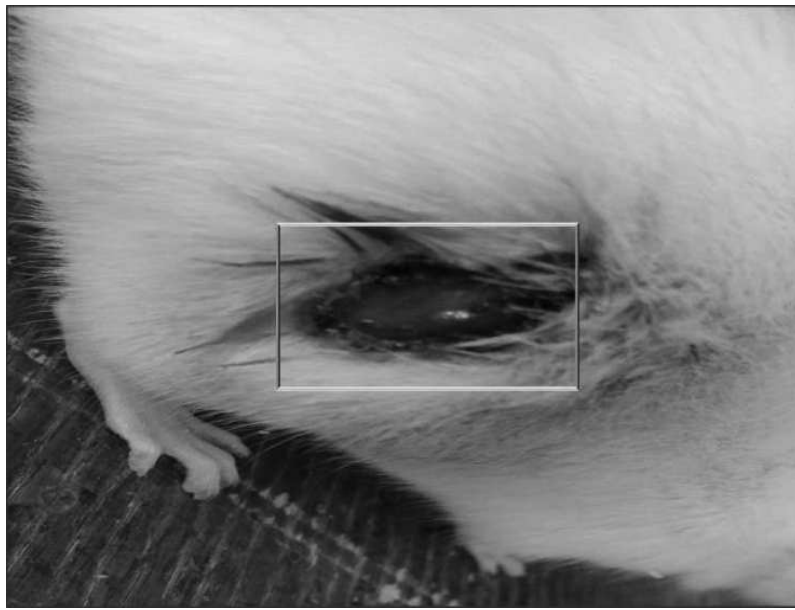


Figure n° 15 : Lésions cutanées détectées chez les rats femelles (groupe TEBHG)

1 Individu sur 5 du groupe BPA ; BPAHG et TEBHG présentait des lésions cutanées auto-infligées après 3 mois de d'exposition au BPA ou TEB associée à une consommation quotidienne du régime hypergars. Ces lésions sont probablement dues à des troubles neuropsychiatriques associés à une perturbation fonctionnelle de la glande surrénale ce qui peut induire une augmentation du taux sérique de la corticostérone. Il y'a une forte possibilité que ces polluants peuvent agir sur l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (**Laws *et al.*, 2009 ; Lan *et al.*, 2015**). Il important de signaler, que les rats femelles blessées ont été prises en charge par des docteurs vétérinaires de l'Institut des Sciences Vétérinaires, et les plaies ont disparus après 10 jours de traitement, après cela aucune automutilation n'a été constatée.

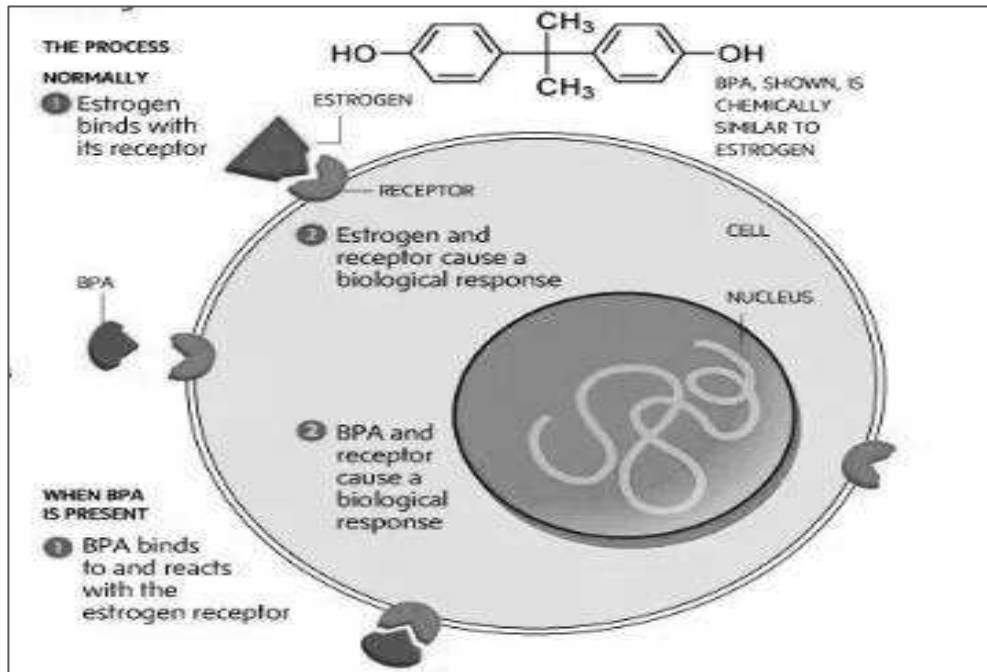


Figure n°15 : Mécanisme d'action du BPA sur l'œstrogène (Wordpress, 2010).

Le tébuconazole

Le tébuconazole est un fongicide systémique de la famille des triazoles connu pour sa persistance dans l'environnement. Ce fongicide est lipophile et peu soluble dans l'eau (36 mg/L). Possédant un risque de volatilisation relativement modéré ($KH = 1 \times 10^{-5} \text{ Pa.m}^3/\text{mol}$ à 25°C), ce composé, solide à température ambiante, est très stable à l'hydrolyse et la photolyse. Il est largement utilisé dans le traitement des bois et principalement utilisé pour le traitement et la protection d'une grande variété de cultures (céréales, soja, vignes, fruits, légumes) contre les rouilles et les fusarioses (Younes, 2013).

Ce fongicide est considéré comme modérément toxique avec des DL50 chez le rat de 1,7 g/kg par voie orale (EFSA, 2008). Toutefois, plusieurs études ont dévoilé son potentiel à risques, notamment lors d'exposition prénatale, sur le développement de neuropathologies (Moser *et al.*, 2001) ou en tant que perturbateur endocrinien (Taxvig *et al.*, 2007). Il entraîne une diminution de la formation d'œstradiol et de testostérone et augmente la formation de progestérone, ce qui implique une inhibition des enzymes impliquées dans la conversion de la progestérone en testostérone. Il agit également en tant qu'antagoniste du récepteur androgène conduisant à une féminisation de la progéniture des rats (Taxvig *et al.*, 2008 ; Kjaerstad *et al.*, 2010). Par contre, aucun effet sur les systèmes immunologique ou de reproduction n'a été constaté dans l'étude de Moser *et al.* (2001).

Le Bisphénol A

Le Bisphénol A (BPA) est un composé utilisé dans la fabrication de plastique de type polycarbonate ou dans la composition de résines époxy tapissant l'intérieur des conserves alimentaires et canettes. Il est capable de migrer de l'emballage vers l'aliment. Plusieurs études au niveau international ont mis en évidence certaines propriétés dangereuses de cette substance sur la santé, qui a un effet reprotoxique, cancérigène et spécialement un effet sur le système endocrinien et perturbe la balance énergétique (obésogène) chez les rongeurs. (Ivry-Del Moral *et al.*, 2011)

En 2011, l'Agence de sécurité sanitaire de l'alimentation (Anses) a notamment publié deux rapports : l'un relatif aux effets sanitaires du bisphénol A, l'autre à ses usages. Ce travail avait mis en évidence des effets sanitaires, avérés chez l'animal et suspectés chez l'homme, même à de faibles niveaux d'exposition. Depuis le 1er janvier 2015, l'interdiction du BPA a été généralisée aux conditionnements directement en contact avec les denrées alimentaires : canettes, boîtes de conserve et couvercles métalliques (Magdalaine, 2018).

Résumé

On savait que les substances actives des pesticides à forte dose étaient redoutables pour l'environnement et la santé, mais les études actuelles soupçonnent même les faibles doses sensées être sans effets nuisibles sur la santé humaine. Cette présente étude s'intéresse à évaluer l'effet toxique d'un pesticide, le Tebuconazole, à faible dose, introduit dans un régime hypercalorique pour mimer un scénario d'exposition réaliste. L'effet toxique de ce fongicide a été comparé à celui du Bisphénol A, un perturbateur endocrinien incontestable et le plus répandu dans l'alimentation humaine. Les résultats obtenus révèlent que l'exposition au tebuconazole (TEB) et le bisphénol A (BPA) de manière concomitante au régime hypergras, accentue le développement de la masse grasseuse des rats femelles sous régime HG, celle-ci subit une augmentation de 39 % chez le groupe sous régime HG et exposées au Bisphénol A (BPAGH) et de 80 % chez le groupe des rats femelles sous le même régime et exposé au tébuconazole (TEBHG), *versus* le groupe contrôle. Aussi, des perturbations d'ordre biochimiques (sur la cholestérolémie, l'urémie et la glycémie) ont été mises en évidence chez les groupes exposés aux polluants avec ou sans régime HG. Aussi, nos résultats dévoilent un effet délétère remarquable, des polluants utilisés au cours de cette étude, sur la balance oxydative des rats femelles soumises au régime hypergras. Ceci est reflété par une augmentation des concentrations des MDA ainsi qu'une diminution significative du pouvoir réducteur et des marqueurs de l'oxydation protéiques plasmatiques. En revanche, le polluant (BPA ou TEB) à lui seul induit un impact négatif et plus important sur les paramètres oxydatifs chez le groupe des rats femelles sous régime contrôle en comparaison avec les rats femelles du groupe HG. Cependant, le TEB aurait un impact plus accentué sur ces paramètres. L'ensemble de ces données sont suffisamment probantes pour incriminer le tébuconazole dans l'apparition des complications et d'aggraver les conséquences associées aux maladies métaboliques.

Mots clés : Tebuconazole, Bisphénol A, pollution environnementale, rat Wistar, stress oxydatif, toxicité chronique

ملخص

كان من المعروف أن المواد الفعالة في المبيدات الحشرية بجرعات عالية كانت خطرة على البيئة والصحة، لكن الدراسات الحالية تشتبه حتى في الجرعات المنخفضة التي من المتوقع ألا يكون لها آثار ضارة على صحة الإنسان. تبحث هذه الدراسة في التأثير السام لمبيد الفطريات، تم إضافة جرعة منخفضة من تيبوكونازول، في نظام غذائي عالي السعرات الحرارية لتقليد سيناريو التعرض الواقعي. تم مقارنة التأثير السام لهذه المبيدات الفطرية بتأثير البيسفينول أ، الذي هو مسبب لاختلال وظائف الغدد الصماء لا جدال فيه والأكثر انتشاراً في أغذية الإنسان. تكشف النتائج التي تم الحصول عليها أن التعرض للتيبوكونازول (TEB) و البيسفينول أ (BPA) بالتزامن مع اتباع نظام غذائي مفرط الجرعة، يبرز تطور كتلة الدهون في الفئران الإناث تحت حمية عالية الدهون (HG) ، التي تخضع لزيادة قدرها 39 % في المجموعة HG المعرضة لبيسفينول أ (BPAGH) و 80 % في مجموعة من الفئران إناث تحت نفس الحمية المعرضة للتيبوكونازول (TEBHG) ، مقابل المجموعة الشاهد. أيضاً، تم العثور على اضطرابات بيوكيميائية (على الكوليسترول، واليوريا، والجلوكوز في الدم) في مجموعات تتعرض للملوثات مع أو بدون نظام غذائي عالي الدهون. أيضاً، نتائجا تكشف عن تأثير ضار ملحوظ، للملوثات المستخدمة خلال هذه الدراسة، على التوازن التأكسدي للفئران الإناث يتعرضن لنظام غذائي مفرط. ينعكس ذلك في زيادة تركيزات MDA بالإضافة إلى انخفاض كبير في قدرة الحد وعلامات أكسدة بروتين البلازما. من ناحية أخرى، يؤدي الملوث (BPA أو TEB) بمفرده إلى إحداث تأثير سلبي وأكثر أهمية على المعلمات المؤكسدة في مجموعة الفئران الإناث الخاضعة لنظام غذائي شاهد بالمقارنة مع الفئران الإناث في مجموعة HG. ومع ذلك، فإن TEB سيكون له تأثير أكبر على هذه المعايير. جميع هذه البيانات مقنعة بما يكفي لتجريم تيبوكونازول في ظهور المضاعفات وتفاقم العواقب المرتبطة بالأمراض الاستقلابية.

الكلمات الدالة: تيبوكونازول، بييسفينول أ، التلوث البيئي، سمية مزمنة، فئران ويستار، خلل تأكسدي.