

République Algérienne Démocratique et Populaire
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Université M'Hamed BOUGARA Boumerdes
جامعة امحمد بوقرة بومرداس



Faculté des sciences
Département de Biologie
MEMOIRE DE FIN D'ETUDE
En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie
Domaine : Science de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Alimentaires
Spécialité: Nutrition et Sciences Alimentaires

Thème

**Effet du thiabendazole et du thé vert sur le rein
et le foie du rat blanc *Rattus norvegicus* : Etude
structurale et dosage de la catalase et du NO
rénal et hépatique**

Présenté par :

M^r SANDA Labo Rabiou

Soutenu le 03/07/2018 devant le jury composé de :

- | | | | |
|-------------------------------|-------------------------|----------------------|---------------|
| ▪ M ^{me} Yahiaoui K. | Maître de conférences A | UMBB | Présidente |
| ▪ M ^{me} Arab O. | Maître de conférences A | UMBB | Examinatrice |
| ▪ M ^r Hamdis N. | Maître Assistant A | Université de Bouira | Promoteur |
| ▪ M ^{lle} Haroun N. | Maître de conférences B | UMBB | Co-promotrice |

Année universitaire : 2017-2018

Remerciements

Arrivé au terme de ce travail, je tiens tout d'abord à remercier Allah le tout miséricordieux de m'avoir donné la santé et la force nécessaire pour accomplir et réussir ce travail.

Ensuite il m'est particulièrement agréable d'exprimer ma gratitude et mes remerciements à tous ceux qui, par leur enseignement, leur soutien et leurs conseils, m'ont aidé à la réalisation de ce présent mémoire.

Ma gratitude va tout d'abord à mon promoteur

M^r Hamdis N pour son attention, sa simplicité et sa générosité scientifique ainsi que pour le privilège qu'il m'a accordé d'encadrer ce travail.

Je tiens également à présenter ma profonde reconnaissance envers ma co-promotrice M^{elle} Haroun N pour son aide précieuse et ses sages conseils qui m'ont aidé à mener à bien ce travail.

Je remercie également M^{me} Yahiaoui Karima pour l'honneur qu'elle m'a accordé de présider mon jury ainsi que M^{me} Arab Ouahida d'avoir accepté d'examiner mon travail.

Je n'ai pas besoins de tenir des propos élogieux à l'endroit de tous ceux qui de près ou de loin ont apporté une contribution concrète et décisive dans l'aboutissement de ce travail.

Dédicaces

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail à mes chers parents qui m'ont dirigé soutenus et aidés tout au long de mes études, qu'ils trouvent ici l'expression de ma plus profonde gratitude.

Je dédie également ce travail à M^r. Halarou Gado Sabo, sans qui, je ne serai probablement pas arrivé à ce niveau. Je ne pourrai jamais oublier de vous exprimer ma profonde reconnaissance pour votre infatigable soutien tant moral que financier.

Enfin je dédie ce travail à mes frères et sœurs ainsi qu'à tous mes amis.

Sommaire

	Page
Introduction	1
Rappels bibliographiques	
I. Thiabendazole	2
I.1 Définition	2
I-2 Structure chimique du thiabendazole	2
I-3 Pharmacotoxicité et métabolisme du thiabendazole	2
I-4 Les effets secondaires du thiabendazole sur les différentes fonctions physiologiques	4
I.5 Toxicité cellulaire du thiabendazole	7
II Stress oxydant	7
II-1. Définition	7
II-2 Définition des radicaux libres	7
II-3 Origine et rôle physiologique des radicaux libres dans l'organisme	8
II.4. Les effets des radicaux libres sur les biomolécules	9
II.5. Les pathologies liées au stress oxydant	10
II.6.. Les systèmes anti-oxydants	11
III. Le thé vert	14
III-1. Classification	14
III-2. Consommation, composition et chimie du thé vert	14
III-3. Les effets bénéfiques du thé vert sur la santé	15
Matériels et méthodes	17
I. Matériels biologiques	17
II. Matériels non biologiques	18
III. Techniques analytiques	21
IV. Analyses statistiques	23
Résultats	24
Discussions	38
Conclusion et perspectives	42
Références bibliographiques	43
Annexes	

Liste des abréviations

ADN :	Acide désoxyribonucléique
AGE :	Advanced Glycosylation End Products
CAT :	Catalase
CYP1A2 :	Cytochrome 1A2
CYP 450 :	Cytochrome P 450
DME0 :	Dose minimale avec effet observé
DO	Densité optique
DPR :	Department of Pesticide Regulation
DSEO :	Dose sans effet observé
EC :	Epicatechine
ECG :	Epicatechine-3-gallate
EGC :	Epigallocatechine
EGCG :	Epigallocatechine-3-gallate
EMA :	European Medicines Agency
EOR :	Espèces réactives de l'oxygène
FDA :	Food and Drug Administration
FIFRA :	Federal Insecticide Fungicide and Rodenticide Act
GPX :	Glutathion peroxydase
GSH :	Glutathion réduit
HE :	Hématoxyline éosine
HO ₂ · :	Radical hydroperoxyde
H ₂ O ₂ :	Reroxyde d'hydrogène
NADPH :	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NO :	Monoxide d'azote
OH· :	Radical hydroxyle
OMS :	Organisation mondiale de santé
ONOO· :	Anion peroxy-nitrate
RL	Radicaux Libres
ROOH :	Peroxyde organiques
ROOH· :	Radical hydroxyperoxyde
ROS :	Réactive oxygen species
SOD :	Superoxyde dismutase
TBZ :	Thiabendazole
USEPA :	United States Environmental Protection Agency
3 OH TBZ :	3 hydroxy thiabendazole
4 OH TBZ :	4 hydroxy thiabendazole
5 OH-TBZ :	5 hydroxy thiabendazole

Index-Figures

Liste des figures

Numéro de figure	Titre de figure	Page
Figure 1	Structurale chimique du thiabendazole	2
Figure 2	Voie métabolique du thiabendazole	4
Figure 3	Mécanisme d'hépatotoxicité du thiabendazole	5
Figure 4	Balance oxydative	7
Figure 5	Schéma modifié de l'origine des différents radicaux libres oxygénés dans les systèmes biologique	9
Figure 6	Les différentes pathologies induites par le stress oxydant	10
Figure 7	Répartition des principales défenses anti-oxydantes dans la cellules	13
Figure 8	<i>Camelia sinensis</i>	14
Figure 9	Les catéchines de thé vert	15
Figure 10	<i>Rattus norvegicus</i>	17
Figure 11	Evolution du poids corporel des rats blancs <i>Rattus norvegicus</i> témoins (T), témoins-thé (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole-thé (TD)	24
Figure 12	Evolution du poids relatifs du foie et des reins chez les rats témoins (T), témoins-thé (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole plus thé (DT)	25
Figure 13	Evolution du poids de foie et de reins chez les rats témoins (T), témoins-thé (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole plus thé (DT)	26
Figure 14	Evolution de NO hépatique chez les <i>Rattus norvegicus</i> témoins (T), témoins thé vert (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole + thé vert (DT)	27
Figure 15	Evolution de NO rénal chez les <i>Rattus norvegicus</i> témoins (T), témoins thé vert (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole + thé vert (DT)	28
Figure 16	Evolution de la catalase hépatique chez les <i>Rattus norvegicus</i> témoins (T), témoins thé vert (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole + thé vert (DT)	29
Figure 17	Evolution de la catalase rénale chez les <i>Rattus norvegicus</i> témoins (T), témoins thé vert (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole + thé vert (DT)	30

Index-Tableaux

Liste des Tableaux

Numéro de tableau	Titre de tableau	Page
Tableau I	Principales espèces réactives dans les systèmes biologiques	8
Tableau II	Valeurs moyennes du poids corporel des 4 lots des <i>Rattus norvegicus</i> : Temoin (T), Témoin-thé (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole-thé (TD).	24
Tableau III	Valeurs moyennes du poid relatif des differents organes (foie et rein) : Temoin (T), Témoin-thé (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole-thé (TD).	25
Tableau IV	Valeurs moyennes du poids de foie et des reins chez les rats témoins (T), témoins-thé (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole plus thé (DT)	26
Tableau V	Valeurs moyennes du taux du NO hépatique et rénal des <i>Rattus norvegicus</i> des differents lots : Temoin (T), Témoin-thé (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole-thé (TD).	27
Tableau VI	Valeurs moyennes du NO rénal chez les <i>Rattus norvegicus</i> témoins (T), témoins thé vert (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole + thé vert (DT)	28
Tableau VII	Valeurs moyennes de l'activité de la catalase hépatique et rénale des <i>Rattus norvegicus</i> des differents lots : Temoin (T), Témoin-thé (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole-thé (TD).	29
Tableau VIII	Valeurs moyennes de la catalase rénale chez les <i>Rattus norvegicus</i> témoins (T), témoins thé vert (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole + thé vert (DT)	30

Index-Planches

Liste des planches

Numéro de la planche	Titre de la planche	Page
Planche I	Structure hépatique du rat blanc wistar témoin T et TT Coloration Trichrome de Masson	31
Planche II	Structure hépatique du rat blanc wistar administré au thiabendazole Coloration Trichrome de Masson	32
Planche III	Structure hépatique du rat blanc wistar administré au thiabendazole et au thé vert Coloration Trichrome de Masson	33
Planche IV	Structure rénale du rat blanc wistar témoin Coloration Trichrome de Masson	34
Planche V	Structure rénale du rat blanc wistar administré au thiabendazole Coloration Trichrome de Masson	35
Planche VI	Structure rénale du rat blanc wistar témoin thé Coloration Hématoxyline éosine	36
Planche VII	Structure rénale du rat blanc wistar administré au thiabendazole et au thé vert Coloration Trichrome de Masson	37

Introduction

Les lésions hépatiques médicamenteuses constituent un problème majeur de santé publique dans la plupart des pays. (**Keeffe, 2005**), C'est le cas du thiabendazole qui est notre molécule étudiée dans ce travail. Une expérimentation réalisée par **Mizutani (1990)** et son équipe a montré que le thiabendazole provoque une déplétion du glutathion rénal et hépatique *in vivo* suggérant la production de métabolites réactifs au cours de son métabolisme.

Le thiabendazole induit la formation des radicaux libres, il réduit la défense antioxydante enzymatique et non enzymatique. Ces métabolites sont éjectés par les hépatocytes soit dans la bile puis excrétés par voie biliaire ou dans le sang puis évacué par les reins (**lullmann-rauch., 2008**).

La surproduction des radicaux libres diminue la capacité antioxydante et la prise supplémentaire des antioxydants alimentaires est nécessaire pour neutraliser l'effet du stress oxydant (**Ness et Powles.,1997 ; Van et al., 1997**). Les polyphénols et les catéchines ont fait l'objet de plusieurs études expérimentales visant à tester leurs effets préventifs sur certains types de cancers. Ainsi, plusieurs recherches ont montré l'efficacité et l'intérêt du thé vert dans différentes pathologies telles que les maladies cardiovasculaires, pulmonaires et les cancer (**Parkin et al., 2005**).

Le but de ce travail est d'étudier les repercussions de l'administration du thiabendazole et l'éventuel effet protecteur du thé vert sur le foie et le rein des rats blancs *Rattus norvegicus*. Pour tous les lots nous avons suivi et analysé ces différents paramètres à savoir :

- ❖ Le poids corporel,
- ❖ Le poids relatif hépatique et rénal ,
- ❖ Le taux du NO hépatique et rénal ,
- ❖ L'activité de la catalase hépatique et rénale ,
- ❖ L' analyse histologique du foie et du rein.

Le mémoire est structuré en :

- Une introduction situant ce travail dans une thématique globale ,
- Un rappel bibliographique définissant le thiabendazole et effets ,
- Une partie matériels et méthodes ,
- Une partie Résultats et discussion ,
- Une conclusion et perspective suivi par des références bibliographique et de l'annexe.

Introduction

I. Thiabendazole

I.1 Définition

Le thiabendazole (Tbz) est un agent antihelminthique et antifongique, largement utilisé pour traiter les infections fongiques et parasitaires chez les animaux et les humains (USEPA, 2002 ; OMS, 2008 ; Dubey et Sanyal, 2010). Il est aussi utilisé en médecine comme agent chélateur pour lier les métaux (Gosselin, 1984). C'est un composé benzimidazole qui sert également de fongicide après récolte dans les fruits et légumes (Groten et al., 2000, Horne et al., 2003). Le Tbz est utilisé dans les maladies infectieuses et parasitaires en association avec l'amoxicilline-acide clavulanique, la céphalosporine, la pénicilline, la rifampicine, roxithromycine, la stavudine, les sulfamides, le ritonavir, la tétracycline (Kim et al., 2006). En outre, le Tbz est autorisé en tant qu'additif alimentaire dans l'Union européenne (Groten et al., 2000 ; Stierum et al., 2008) et au Japon (Sugihara et al., 1997).

I.2 Structure chimique du thiabendazole

Le Tbz ou 2-(4-thiazolyl)benzimidazole est un dérivé du benzimidazole substitué en position 2 par un groupement thiazolyle (Fig.1).

C'est une poudre blanche inodore modérément polaire, qui fond à 304 C°, de formule brute est C₁₀H₇N₃S avec un poids moléculaire de 201,1 g/mol. Le Tbz est pratiquement insoluble dans l'eau, peu soluble dans les solvants organiques tels que le dichlorométhane et assez soluble dans le méthanol et les acides minéraux (10.0 g/l/1 dans HCl à pH=2). Le Tbz est également stable au contact d'acide, de la lumière et de la chaleur (Anon, 1997).

Formule brute

Structure

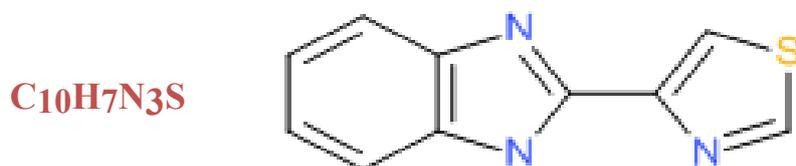


Figure 1 : Structure chimique du thiabendazole (Groh et al., 2012)

I.3 Pharmacocinétique et métabolisme du thiabendazole

Quatre volontaires humains Homme pesant 66-89 kg ont reçu une dose orale unique de 1 g de ¹⁴C-thiabendazole. Les concentrations plasmatiques maximales ont été trouvées environ 1 heure après le traitement. Une moyenne de 84% du radiomarqueur a été excrétée dans les 24

heures dans les urines. Au cours des cinq jours de collecte, une moyenne de 87% du radiomarqueur administré a été récupérée dans l'urine. Le glucuronide et les esters de sulfate de 5-OHTbz constituaient environ 50% du radiomarqueur récupéré dans l'urine. Seulement 7% en moyenne du Tbz a été excrété dans les fèces au cours de la période d'observation de 5 jours. Environ 94% du radiomarqueur administré a été récupéré dans l'urine et les fèces. (Tocco *et al.*, 1966a)

Selon Craine (1990), pour les rats *Charles River* qui ont reçu des doses orales du ^{14}C -Tbz allant de 25,8 à 418 mg/kg, seulement 0,01% du radiomarqueur administré a été exhalé par les poumons. À des doses élevées et faibles environ 70% de la dose administrée a été excrétée dans l'urine. A faible dose, 80-90% ont été excrétés dans les 24 heures mais à dose élevée seulement 28% ont été excrétés dans les 24 heures. Le Tbz non modifié n'était pas présent dans des concentrations mesurables dans l'urine. 69 à 79% du ^{14}C -Tbz administré excrété dans l'urine était sous forme de sulfate de 5-OHTbz ou de glucuronide .

I.3.1 Toxicité du thiabendazole

Le Tbz est considéré comme ayant une faible toxicité aiguë (USEPA, 2002). D'après les études toxicologiques, la dose sans effet observé (DSEO) est de 10 mg/kg de poids corporel/jour (OMS, 2008 ; EMA, 2004). La dose quotidienne maximale recommandée de Tbz est de 3 g/jour pour les patients pesant 60 kg et la posologie habituelle de 50 mg/kg de p.c (FDA, 2003). La dose létale DL50 est égale à 1300 mg/kg. Bien que considéré comme un composé généralement sécuritaire, on lui associe de nombreux effets secondaires. Le Tbz induit une toxicité hépatique et même un dysfonctionnement thyroïdien (Fujitani *et al.*, 1991) et est une puissante néphropathie entraînant de graves lésions rénales (Mizutani *et al.*, 1990), c'est pourquoi il a été classé comme un cancérigène potentiel (USEPA, 2002).

I-3.2 Métabolisme du Thiabendazole

Le métabolisme du Tbz a été étudié dans des microsomes hépatiques humains et de souris pour comparer le profil métabolique du composé dans les deux espèces. Chez l'humain, le Tbz est métabolisé essentiellement par le foie, en composés quasiment inactifs excrétés principalement par les reins mais aussi par la bile, son métabolite actif est le 5-hydroxy thiabendazole (5-OHTbz) formé par l'hydroxylation de l'anneau aromatique catalysée par le CYP1A2 (Fig.2). Le 5-OHTbz subirait d'abord une oxydation à un électron pour générer des espèces radicalaires puis une disproportionation ou une oxydation additionnelle pour donner

une quinone-imine dans le cas d'un surdosage du Tbz, ceci provoquerait un stress oxydatif et une toxicité hépatique car la molécule électrophile se lie irréversiblement aux protéines cellulaires hépatiques se traduisant ainsi par une cholestase intrahépatique pouvant dégénérer en une cirrhose (Coulet *et al.*, 2000 ; Dalvie *et al.*, 2006).

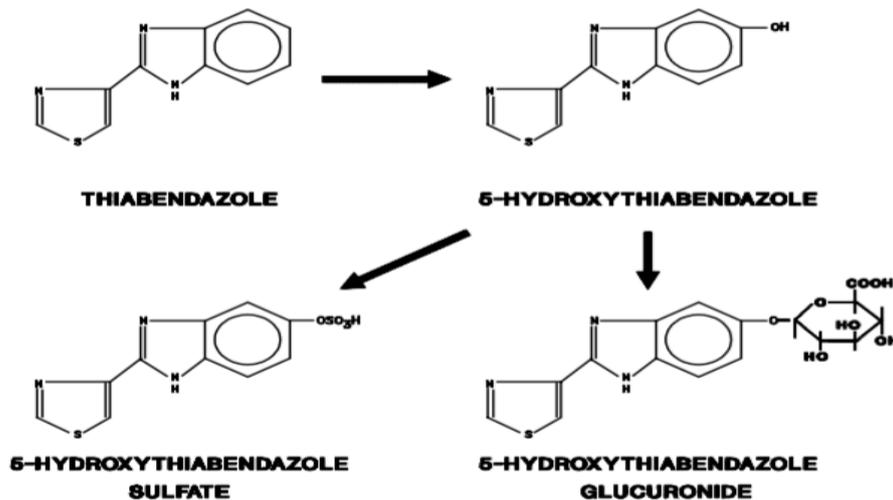


Figure 2 : Voie métabolique du Thiabendazole (Craine, 1990)

1.4 Les effets secondaires du thiabendazole sur les différentes fonctions physiologiques

En plus d'un usage médical, les humains sont soumis à une exposition environnementale au Tbz par l'alimentation. Ainsi, le Tbz a été suspecté dans plusieurs cas d'accidents due à l'utilisation des pesticides entre 1984 et 1998 (Mehler, 2000). Cependant, dans trois cas seulement le Tbz était le pesticide causal indiscutable. Tous les incidents s'accompagnent d'un développement d'une dermatite, d'une conjonctivite ou d'éruptions cutanées. Les irritations sont survenues principalement à la suite du contact de la peau non protégée, le contact avec des gants contaminés suite au passage du pesticide à travers des gants de coton ou à la pulvérisation accidentelle directe.

I-4.1 Hépatotoxicité du thiabendazole

L'Hépatotoxicité est définie comme le pouvoir qu'a une substance de provoquer des dommages au foie. La toxicité sur le foie se manifeste soit sous forme d'inflammation (on parlera d'hépatite) ou encore de nécrose (mort des cellules du foie) dans les cas les plus sévères. La stéatose hépatique survient lorsqu'il y a accumulation des acides gras dans le foie (Dana et Benichou., 1993). Les lésions hépatiques médicamenteuses constituent un problème

majeur de santé publique dans la plupart des pays occidentaux car elles représentent la majorité des cas d'insuffisance hépatique aiguë souvent létale (O'Brien et Siraki, 2005 ; Keefe, 2005). Des cas de cholestase intra hépatique sévère évoluant souvent vers une cirrhose ont été rapportés (Manivel et al., 1987 ; Roy et al., 1989 ; Bion et al., 1995 ; Mohi-oddin et Lewis, 2004). Les lésions hépatiques parenchymateuses provoquées par le Tbz ont parfois entraîné une insuffisance hépatique irréversible (FDA, 2003 ; EMA, 2004). La plus part des effets toxiques du Tbz sur le foie ont été associés à ses métabolites réactifs et plusieurs mécanismes de bioactivation du métabolite principal 5-OHTbz ont été proposés. Ce métabolite en présence de CYP450 ou peroxydase se transforme en quinone-imine qui se lie de façon irréversible aux protéines cellulaires induisant ainsi le stress oxydant et l'oxydation des protéines et par conséquent des altérations hépatiques (Mizutani et al., 1993 ; Coulet et al., 2000), (Fig.3).

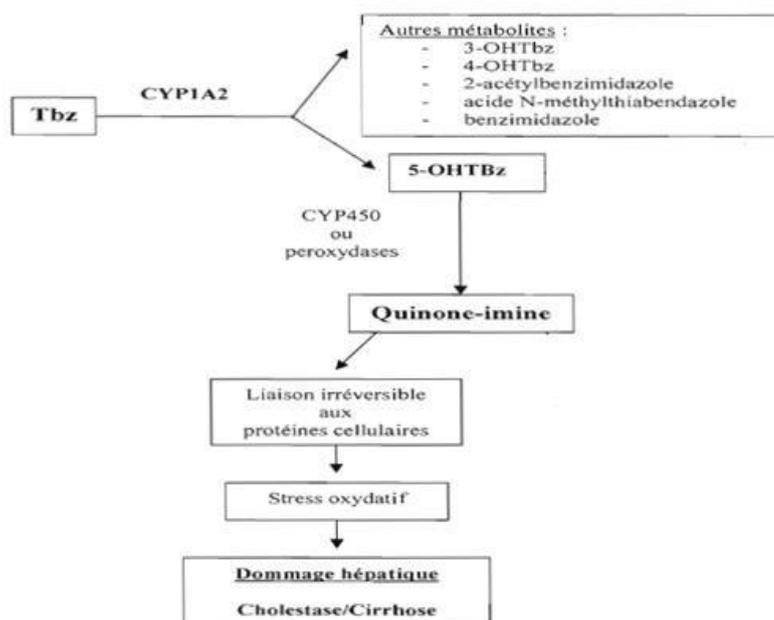


Figure 3 : Mécanisme d'hépatotoxicité du Thiabendazole (Mizutani et al., 1994)

I.4-2 Néphrotoxicité du thiabendazole

Chez les rats, il a été démontré que le Tbz provoque une déplétion du glutathion rénal et hépatique *in vivo* suggérant la production de métabolites réactifs au cours de son métabolisme. (Mizutani et al., 1993). Les effets toxique du Tbz sur la fonction rénale menée chez la souris ont montré que la toxicité aiguë (1, 3, 5 ou 7 jours) du Tbz est dose dépendante, elle se manifeste par une dilatation tubulaire, une desquamation dégénérative, une infiltration

cellulaire et une fibrose .L'observation au microscope électronique a mis en évidence des lésions glomérulaires telles que l'aplatissement des podocytes et des modifications œdémateuses du mésangium chez les souris traitées. Aucune dose sans effet observable (DSEO) n'a pu être identifiée (**Tada et al., 1989**). Les effets toxiques sur les reins ont été également observés dans une étude sub-aigue de 13 semaines et dans les études chroniques faites chez le rat (**USEPA , 2002**) .

I-4.3 Effet du thiabendazole sur le développement

Le Tbz provoque des malformations majeures du système squelettique chez les souris, les lapins et les rats. La DSEO pour les souris est de 26 mg/kg/jour basé sur des anomalies squelettiques. La DSEO pour la toxicité pour le développement chez les lapins mâles est de 24 mg/kg/jour. La DSEO chez la lapine était de 120 mg/kg/jour en fonction de la diminution de la consommation alimentaire et de la prise de poids corporel (**Zielhuis et van der Kreek, 1979**). Cependant, dans deux études dans lesquelles des rats gravides ont été exposés au Tbz, des variations squelettiques accrues ont été notées. En plus de ces variations, il y avait des altérations et des malformations dose-dépendante du système squelettique. (**IPTP, 1985**). Cependant , aucune malformation n'a été signalée chez les femelles gestantes (6-17J de la gestation) des rats *Wistar* et chez les descendants. La DSEO de développement était d'environ 1,5 mg/kg/jour (**Zielhuis et van der Kreek., 1979**).

I.4.4 Effet du thiabendazole sur la reproduction

L'étude de l'effet toxique de Tbz sur deux génération n'a montré aucun effet sur la reproduction, a savoir la durée de gestation et le nombre d'animaux par portée sauf un variation de la prise alimentaire et du poids corporel en fin d'expérimentation (**Lankas et Wise, 1992**).

I-4.5 Effet du thiabendazole sur l'intégralité de l'ADN

Le potentiel génotoxique du Tbz a été démontré dans des études au laboratoire. Le Tbz a été testé quant à la mutagénicité chez *Salmonella typhimurium* pour les lésions de l'ADN dans les hépatocytes primaires de rat et les fibroblastes embryonnaires humains *in vitro*. Trois études soumises avec des informations détaillées utilisant diverses souches de *Salmonella* y compris TA98 n'ont pas rapporté de mutations (**Sina, 1992**). Cependant, des résultats positifs ont été obtenus dans les souches TA98 et TA99 de *Salmonella* dans une autre étude. En effet, le Tbz a provoqué la formation de micronoyaux *in vivo* chez des souris, un échange de chromatides

sœurs *in vivo* chez des souris, une hyperploïdie ovarienne de souris *in vitro*. Ces effets génotoxiques sont impliqués dans la perturbation du fuseau achromatique, ce qui correspond à la capacité connue du Tbz à perturber l'assemblage de la tubuline (Zeiger *et al.*, 1988).

I-5 Toxicité cellulaire du thiabendazole

La toxicité cellulaire du Tbz et son métabolite majeur 5-OHTbz est due à l'induction du stress oxydant et/ou l'inflammation (Mizutani *et al.*, 1994)

II. Stress oxydant

II.1 Définition

Le stress oxydatif encore appelé stress oxydant dans les systèmes biologiques est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres (RL) et les capacités des systèmes de défenses anti-oxydants, c'est un déséquilibre de la balance prooxydants/antioxydants en faveur des pro-oxydants. (Koppenol, 2001) (Fig.4).

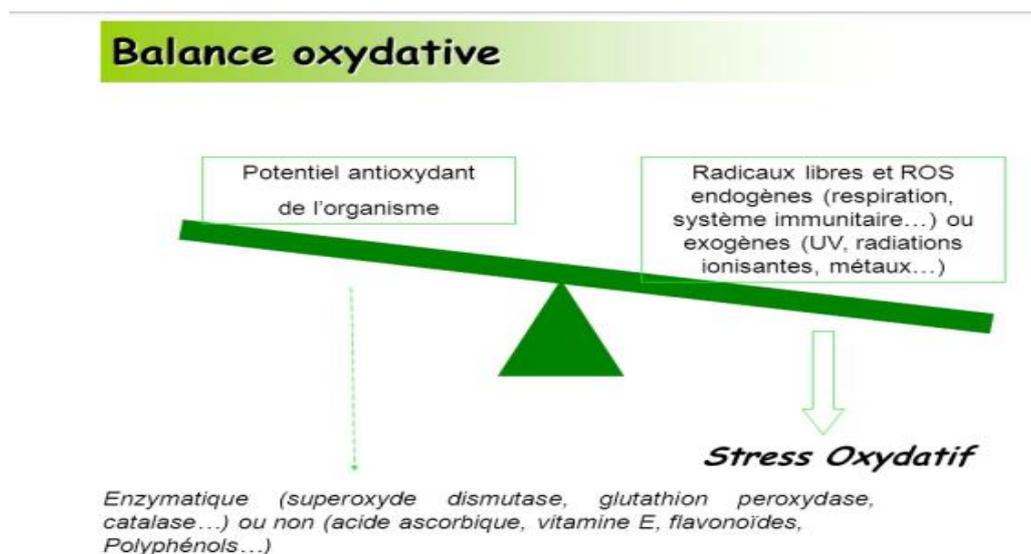


Figure 4 : Balance oxydative (Burke *et al.*, 2003).

II-2 Définition des radicaux libres

Un radical libre (RL) est une espèce chimique, atome ou molécule très réactive contenant un électron non apparié qui sera soit transféré vers une autre molécule ou comblé par l'acceptation d'un électron. Les RL sont divisés en deux groupes, les espèces radicalaires sont soit réactifs de l'oxygène (ROS) telles l'anion superoxyde, le radical hydroxyle soit réactif de l'azote (RNS) telles le peroxydant et le NO et les espèces non radicalaires (Tableau I) (Halliwell, 1994). Ces espèces radicalaires sont très instables et très réactives, leur durée de vie est très courte (4-10s), elles sont produites d'une manière continue dans de nombreux

Rappels bibliographiques

phénomènes biologiques, elles participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire, à la destruction des cellules tumorales par apoptose et à la différenciation cellulaire (**Tremellen, 2008**).

Tableau I: Principales espèces réactives dans les systèmes biologiques (**Yzydorkzyk, 2011**).

Radicaux libres			
Les espèces radicalaires		Les espèces non radicalaires	
Espèces réactives de l'oxygène	Espèces réactives d'azote	Espèces non réactives de O ₂	Espèces nonréactive d'azote
O ₂ ⁻ :Anion superoxyde	NO [•] :Monoxyde d'azote	ONOO ⁻ : Anion peroxydinitrite	OONO ⁻ :Anion peroxydinitrite
HO ₂ ⁻ :Radical hydroxyde	NO ₂ [•] :Dioxyde d'azote	H ₂ O ₂ [•] : Peroxyde d'hydrogène	ONOOH :Acide peroxydinitreux
OH [•] :Hydroxyle	N ₃ [•] :Nitrate	O ₂ ⁻ : Oxygène singulet	ROONO :Alkyl peroxydinitrate
RO [•] :Radical alkoxy		HOCl : Acide hypochloreux	NO ⁺ : Cation
ROOH [•] :Radical hydroxyperoxy			NO ⁻ :Anion nitrosyl

II.3 Origine et rôle physiologique des radicaux libres dans l'organisme

Les RL peuvent provenir soit d'une source exogène soit d'une source endogène.

II.3.1 Les sources endogènes

La mitochondrie est la source majeure de production d'O₂⁻ dans la cellule intacte au cours de la respiration cellulaire (**Bonnefoy et al., 2004**). L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits par le complexe enzymatique NADPH oxydase des cellules phagocytaires activées. Plusieurs autres systèmes enzymatiques produisent des radicaux libres au cours des réactions biochimiques (xanthine oxydase, hème oxygénase, cytochrome P450...). Une autre source importante des RL est les cycles redox de l'organisme obtenus par l'oxydation de molécules comme les quinones et différentes molécules (acrobate, adrénaline et flavines) (**Garait, 2005, Delattre et al., 2005**).

Le monoxyde d'azote radicalaire ou NO est un composé important; synthétisé par les cellules endothéliales via l'action des NO synthétases. C'est une molécule labile très diffusible, dont les effets régulateurs s'exercent sur la plupart des fonctions physiologiques de l'organisme

(maintient du tonus vasculaire, neurotransmission, fonctionnement rénal...). Toutefois, le NO peut former avec l'anion superoxyde le peroxyneutre (HOONO), un oxydant puissant et diffusible, capable d'endommager de nombreuses molécules organiques (Hare, 2004) (Fig.4)

II.3.2 Les sources exogènes

Les RL nocifs sont également produits dans l'organisme lors de l'exposition à des agressions de l'environnement comme les agents infectieux, la pollution, les rayons ionisants X ou gamma, les rayons ultraviolets et la fumée de la cigarette (Fontaine et al., 2002).

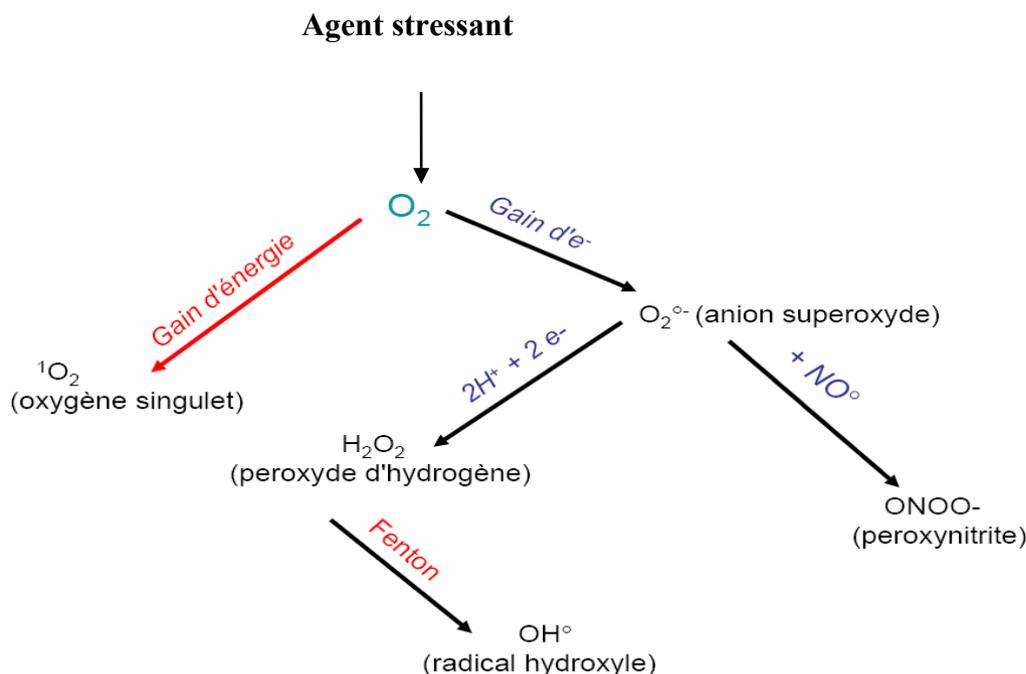


Figure 4 : Schéma modifié de l'origine des différents radicaux libres oxygénés dans les systèmes biologique (Amara, 2007).

II.4 Effet des radicaux libres sur les biomolécules

Les RL sont instables et cherchent à s'apparier avec un électron d'une autre molécule. Ils sont à l'origine de réactions en chaîne qui conduisent à des destructions cellulaires. Leurs structures cibles essentielles sont l'ADN, les membranes cellulaires mais aussi toutes les molécules pouvant être déstabilisées (Delattre et al., 2005). La molécule d'ADN constitue une cible cellulaire importante pour les attaques radicalaires. L'oxydation du désoxyribose entraînant une coupure des brins de la double hélice, des enchainements croisés et des modifications des bases. Le 8-hydroxyguanine est le marqueur majeur de l'oxydation des bases nucléiques notamment la guanine, ce qui provoque des altérations du profil génétique, de graves conséquences sur la réplication de génome (Leverse et al., 2001) . Les protéines

les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydriles, c'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées et inactivées (**Lacolley et al., 2007**). Les lipides des organismes vivants sont particulièrement sensibles à l'oxydation, surtout ceux formés d'acides gras polyinsaturés dans les membranes cellulaires et subcellulaires. Les espèces réactives de l'oxygène peuvent initier directement la peroxydation lipidique (**Gutteridge et al., 1990**). La peroxydation des lipides peut toucher soit les lipoprotéines circulantes augmentant ainsi le risque d'apparition de la plaque d'athérome, soit les phospholipides membranaires ce qui induit une altération de l'architecture membranaires et des fonctions des enzymes et des transporteurs membranaires et provoque aussi une modification de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes (**Favier, 2003**).

II.5 Les pathologies liées au stress oxydant

La plupart des maladies induite par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale des RL. Ces derniers peuvent être à l'origine de multiples maladies telles que le cancer, les maladies neuro-dégénératives et les infections virales. Ils peuvent s'attaquer aux cellules du système immunitaire et donc altérer les réactions de défenses de l'organisme. Ils sont aussi des facteurs potentialisant l'apparition des maladies plurifactorielles tels que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Sohal et al., 2002**).

(Fig.6)

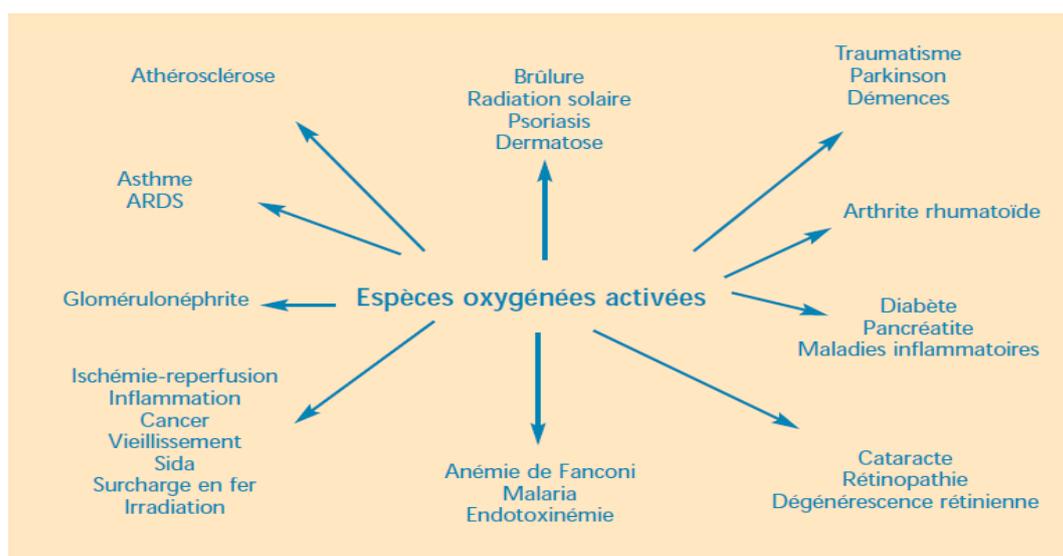


Figure 6. Les différentes pathologies induites par le stress oxydant (**Allison et al., 2000**)

II.6 Les systèmes antioxydants

II.6.1 Définition

Un antioxydant est par définition une espèce chimique diminuant le stress oxydant au sein de l'organisme. Un antioxydant peut donc soit prévenir la synthèse des RL en inhibant l'initiation des chaînes réactionnelles ou désactiver directement les RL. Les antioxydants peuvent être classés selon leurs modes d'actions : systèmes enzymatiques, inhibiteurs d'enzymes oxydantes, chélateurs de métaux et piègeurs de RL. L'organisme possède des systèmes endogènes dédiés à cette action protectrice. Cependant, cette ligne de défense est facilement saturée.

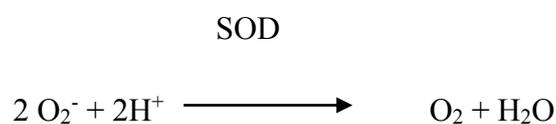
De nombreux antioxydants exogènes sont également présents dans l'alimentation apportant un soutien significatif dans la lutte anti-oxydante (**Delattre et al., 2005**). Globalement il existe des antioxydants endogènes et exogènes :

II.6-2- Systèmes antioxydants endogènes

Les antioxydants tels que la catalase, la glutathion peroxydase, la superoxyde dismutase et la glutathion reductase sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les RL (**Borg et Reeber., 2004**). Leur rôle principal est de diminuer la quantité des ROS dans la cellule.

II.6.2.1 La superoxyde dismutase (SOD)

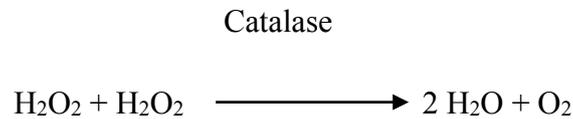
Ce sont des métalloenzymes retrouvées dans toutes les cellules animales ou végétales. Elles catalysent la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène H₂O₂ et en oxygène (**Delattre et al., 2005**).



La SOD existe sous trois isoformes qui se différencient par leur localisation cellulaire et par leur cofacteur métallique. Une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD), une forme mitochondriale associée au manganèse (MnSOD) et une forme extracellulaire (EC-SOD) (**Okado-Matsumoto et Fridovich., 2001 ; Sturtz et al., 2002**).

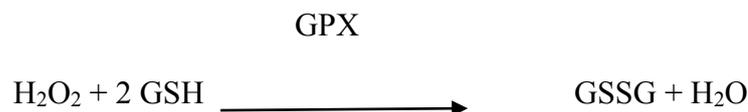
II.6.2.2 La catalase

La catalase est une enzyme héminique présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes (Ko *et al.*, 2000). Elle assure une réaction de dismutation de H₂O₂ formé par les superoxydes dismutase en eau et en oxygène moléculaire (Baud., 1992 ; Delattre *et al.*, 2005).



II.6.2.3 La glutathion peroxydase

GPX est une séléno enzyme (Se-GPX) localisée dans le cytosol et les mitochondries. Elle catalyse la réduction de peroxyde d'hydrogène en eau et en glutathion oxydé GSSG par l'intermédiaire de glutathion réduit GSH qui est utilisé comme donneur d'hydrogène au cours des réactions de décomposition. (Delattre *et al.*, 2005).



II.6.3- Les systèmes antioxydants exogènes

La production des antioxydants par l'organisme est insuffisante pour neutraliser les RL produits en excès lors du stress oxydatif donc la prise supplémentaire des antioxydants exogènes d'origine animal et végétal est largement recommandée (Giammarioli *et al.*, 2004 ; Guan *et al.*, 2004 ; Panza *et al.*, 2008). Les oligoéléments représentés par le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense anti oxydante puisque toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leurs activités catalytiques (Favier, 2003 ; Garait, 2005).

Le glutathion réduit (GSH), réduit le peroxyde d'hydrogène et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la glutathion peroxydase. Il peut aussi réduire les radicaux formés par l'oxydation de la vitamine E et C, baissant ainsi les niveaux de peroxydation lipidique. La vitamine E étant liposoluble se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique. La vitamine C (acide ascorbique), hydrosoluble se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire, peut capter directement l'O₂⁻ et l'OH[•]. Elle peut aussi réduire le radical α-tocophérol et une meilleure efficacité de la vitamine E (Packer *et al.*, 1997 ; Curtay et Robin., 2000 ; Evans, 2000).

Rappels bibliographiques

Une baisse de taux de glutathion cellulaire et des protéines thiols et une augmentation du taux de marqueur de peroxydation de lipides MDA a été détectée après exposition des hépatocytes *in vitro* au thiabendazole (Nakagawa et Moore, 1995)

Les polyphénols d'origine végétale présentent aussi une activité antioxydante, ils sont présents dans les fruits rouges, la tomate et les dattes. Ce sont des composants principaux d'une boisson largement consommée dans le monde, le thé vert (Curtay et Robin., 2000).

La figure suivante (Fig.7) représente les sites intracellulaires d'actions des différents antioxydants endogènes et/ou exogènes.

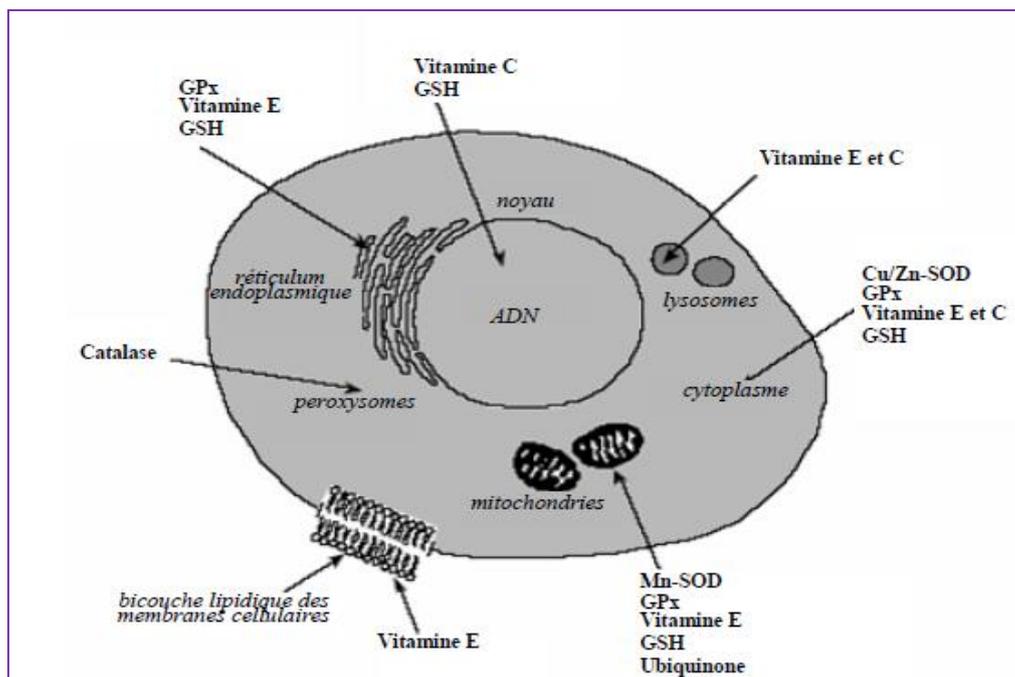


Figure 7: Répartition des principales défenses anti-oxydantes dans la cellule (Cabrera *et al.*, 2006)

III. Le Thé vert *Camelia sinensis*

Le thé vert est l'extrait aqueux des feuilles sèches de la plante *Camellia sinensis* de la famille de Theaceae, cultivé largement en Chine, en Inde, au Japon et en Indonésie. Le théier est un arbre à feuilles persistantes pouvant atteindre de 10 m à 15 m jusqu'à 20 m pour certaines variétés. Les feuilles alternes, persistantes, ont une forme allongée, elliptiques longues de 4 à 15 cm, sur 2 à 7 cm de large. Elles sont brillantes, vert foncé, relativement coriaccées, avec une texture assez épaisse (Fig.8) (Wachira et al., 2001).

III.1 Classification (D'après Otto Ernst Carl Kuntze 1843-1907)

Règne : *plantae*

Division : *magnoliophyta*

Classe : *magnoliopsida*

Ordre : *theales*

Famille : *Theaceae*

Genre : *camellia*

Espèce : *sinensis*



Figure 8 : *Camelia sinensis* (Eddouks, 2007)

III.2 Consommation, Composition et Chimie du thé vert

Le thé est la boisson largement consommée dans le monde entier après l'eau, à quantités variables, la consommation moyenne par habitant est d'environ 120 ml/jour. Le thé vert contient des composés polyphénoliques qui sont principalement les flavanols, les flavandiolis, les flavonoïdes, les tanins et les acides phénoliques qui représente 30% du poids sec des feuilles (Katiyar et al., 1995).

La plupart des polyphénols du thé vert sont les flavanols, communément appelés catéchines, dont les principales sont (-)-épicatéchine (EC) (6.4%), (-)-épicatéchine-3-gallate(EGC) (13.6%), (-)-épigallocatéchine (EGC) (19%) et (-)-épigallocatéchine -3-gallate (EGCG) (59%) (McKay et al., 2002) (Fig.9). Le thé contient aussi des méthylxanthines (notamment la caféine 1 à 5 %), il est riche en vitamines B telles que la thianine (B1), la riboflavine (B2) et la niacine (B3). La vitamine C se trouve aussi en quantité significative dans le thé vert.

Enfin, l'infusion du thé contient la vitamine P qui favorise la perméabilité capillaire et l'élasticité de la paroi des vaisseaux sanguines (**Banerjee et al., 2005**).

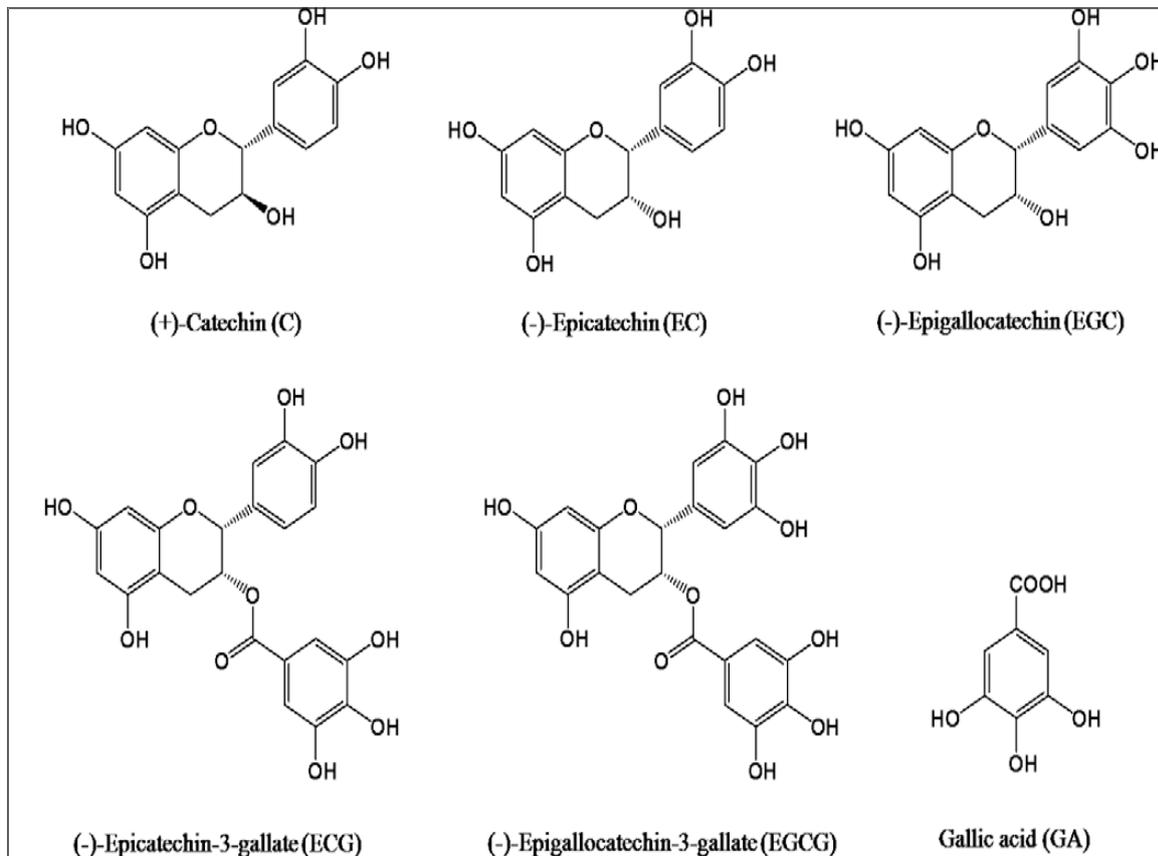


Figure 9 : Les catéchines de thé vert (**Keon et al., 2010**).

III.3 Les effets bénéfiques du thé vert sur la santé

Le thé vert est une boisson riche en antioxydant alimentaire, la plupart des effets bénéfiques du thé vert sont attribués à ses flavonoïdes polyphénoliques, qui peut réduire le risque d'une variété de maladies (**McKay et al., 2002 ; Kim et al., 2003**).

De même, le thé est une source très importante en polyphénols dont le rôle est d'inhiber le stress oxydant non seulement par la neutralisation des radicaux libre par transfert d'électron ou d'atome d'hydrogène, mais aussi, en activant les enzymes anti-oxydantes (**Shengmin Sang et al., 2005**). Des études épidémiologiques ont montré que le thé vert a des propriétés chemopréventives, antimutagéniques et anti-angiogénique (la formation des nouveaux vaisseaux sanguins) (**Leggio et Addolorato., 2009**). Le thé vert possède des propriétés anticancéreuses (**Azam et al., 2004**). En effet, la consommation de thé vert réduit la fréquence d'apparition de certains types de cancers (seins, prostate, peau, duodénum, pancréas, foie, colon et les poumons) (**Mukhtar et Ahmed., 2000 ; Elbling et al., 2005**).

Rappels bibliographiques

Il réduit également la fréquence d'apparition des maladies cardiovasculaires et cérébrovasculaires dont les facteurs de risques majeurs sont l'hypertension, l'hypercholestérolémie et l'obésité, en effet le thé vert abaisse la pression du sang et empêche le développement des plaques d'athérome en inhibant l'oxydation des lipoprotéines plasmatiques (**Yuri, 2009**). Le thé vert présente une activité anti-inflammatoire, il inhibe l'expression du gène de interleukine-8, lequel participe au processus inflammatoire. Un effet bénéfique antidiabétique antibactérien et anti viral a été également attribué au thé vert (**Hajimahmoodi et al., 2008**). Les polyphénols du thé vert produisent un effet protecteur sur les pathologies rénales telles que l'insuffisance rénale et la néphropathie diabétique (**Twal et al., 2013**). En effet ils préviennent la néphrotoxicité et l'hépatotoxicité et réduits les altération oxydatives induits par les ROS au niveaux des tissus rénaux et hépatiques (**Chacko et al., 2010**).

I. Matériels biologiques

Notre expérimentation est réalisée sur les rats *Wistar* blancs *Rattus norvegicus* au sein de l'animalerie de faculté des sciences de l'Université M' Hamed Bougara de Boumerdes pendant un mois et l'histologie est faite à l'hôpital Parney.

I-1. Classification systématique du rat *Wistar*

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



Figure 10 : *Rattus norvegicus*

I-2. Origine et caractères de rat *Wistar*

Le rat de laboratoire (*Rattus norvegicus*) est un rongeur de la famille des muridés. Il s'est propagé en Europe à partir du Moyen-âge. Ces animaux vivaient en général en colonies dans des terriers, ils sont omnivores, dociles et facile à manipuler (**Harkess et Wagner., 1994**). Le rat *wistar* a un caractère prudent et curieux ce qui lui permet de s'adapter à des environnements différents, il est en général peu agressif et sociable (**Harpkiewick, 1998**). Le poids d'un adulte est de 450 à 520 g pour les mâles et de 250 à 300 g pour les femelles, le poids d'un petit à la naissance est de 5 à 6 g. Il a une tête large, des petites oreilles, des yeux rouges globuleux et une petite queue écaillée. La facilité d'élevage, la durée de vie (2 à 3 ans) et de gestation (21 jours) font de lui un modèle intéressant pour la recherche (**Roosen et Giesel., 1950**).

I-3. Conditions d'élevage

L'élevage a été effectué au niveau de l'animalerie de l'Université M'Hamed Bougara de Boumerdes où les rats sont maintenus pendant une période d'adaptation de 7 jours dans des cages en plastique de 43x28x18 cm de dimensions munies d'un couvercle métallique grillagé.

Le couvercle contient deux espaces dont un, réservé au dépôt de l'aliment qui provient d'une SARL de production locale (Bouzaréah Alger) et qui est composé de: protides (23,03%), lipides (9%), glucides (48%) et complexe minéral vitaminé (3%) et l'autre pour introduire le biberon d'eau ou de thé. Le fond de la cage est rempli par une couche de sciure de bois qui doit être renouvelée deux ou trois fois par semaine.

Après une période d'adaptation d'une semaine, les animaux sont repartis en quatre lots dont deux lots témoins (témoin et témoin-thé) et deux lots qui reçoivent la nourriture supplémentée en (thé plus thiabendazole et en thiabendazole).

I-4. Le protocole expérimental

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

❖ Lot témoin (T)

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

❖ Lot témoin-thé vert (TT)

Les animaux au nombre de Cinq reçoivent chaque jour par voie orale une dose de 2% de thé vert (soit 25ml/rat/jour) et de l'aliment normal .

❖ Lot Thiabendazole (D)

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

❖ Lot thiabendazole-thé vert (TD)

Les animaux de ce lot sont au nombre de dix, reçoivent chaque jour du thé vert (2%) et un aliment préparé à partir de l'aliment auquel nous rajoutons du thiabendazole à raison de 500mg/kg de p.c (fiche technique N°3, Annexe).

I-5. Extrait de thé vert

20g de feuilles sèches de thé vert *camellia senensis* sont infusées dans un litre d'eau bouillante pendant 10 minutes. Le filtrat obtenu représente l'extrait de thé vert à 2% qui est donné comme boisson aux rats : (fiche technique N°1 , Annexe).

II. Le matériel non biologique

La verrerie, l'appareillage ainsi que les réactifs utilisés pour la réalisation de cette étude sont regroupés dans l'annexe (Tableau N°2, Annexe).

Techniques

II-1. Techniques opératoires

II-1-1. Contrôle de poids corporel

Les rats sont pesés de manière hebdomadaire pour la suivie de l'évolution pondérale .

II-1-2 Prélèvement des organes : le foie et les reins

Après une durée d'un mois de traitement, les animaux sont sacrifiés par décapitation. Le foie et les reins sont prélevés, pour l'étude histologique, les organes sont immergés dans le fixateur, le formol à 10% pendant 24H. Une partie des organes, est conservée dans l'azote liquide puis dans le -80°C au niveau du laboratoireVALCOR pour les dosages biochimiques.

II-2. Techniques histologiques

Les techniques histologiques comportent plusieurs étapes (Annexe, Tableau N°3) lesquelles ont pour but l'obtention des coupes observables au microscope photonique.

II-2-1. La fixation

C'est l'étape la plus importante de la préparation histologique. Elle consiste à figer les structures tissulaires et cellulaires dans un état proche du vivant. L'agent fixateur solidifie le gel protéique qui circule entre les mailles du réseau membranaire limitant le hyaloplasme et les organites. Les reins et le foie prélevés sont placés dans des flacons remplis de fixateur qui est le formol à 10% pendant 24 heures à la température ambiante.

II-2-2. Lavage et déshydratation

Avant de procéder à la déshydratation les organes fixés, sont lavés à l'eau courante pendant 3 heures pour éliminer l'excès du fixateur. Les organes fixés et lavés sont ensuite plongés successivement dans :

- Trois bains d'alcool 50° de 30 minutes chacun.
- Trois bains d'alcool 70° de 30 minutes chacun.
- Trois bains d'alcool 90° de 30 minutes chacun.
- Trois bains d'alcool 100° de 30 minutes chacun.

La déshydratation dans des bains d'alcool à degré croissants facilite l'imprégnation des pièces dans la paraffine non miscible à l'eau .

II-2-3. Eclaircissement

C'est l'étape qui permet l'élimination complète des traces d'alcool éthylique en utilisant trois bains du butanol de 8 heures chacun.

II-2-4. Inclusion dans la paraffine

Les fragments de organes sont d'abord immergés dans un bain de paraffine-butanol d'une heure de temps puis dans deux bains successifs de paraffine pure et filtrée de deux heures chacun dans une étuve réglée à 60°C .

II-2-5. Confection des blocs

Cette étape consiste à placer l'organe dans un moule rempli préalablement de paraffine fondue et filtrée couvert d'une cassette. Après durcissement le bloc est prêt à être coupé .

II-2-6. Confection des coupes et étalement

Les coupes sont réalisées avec un microtome, l'épaisseur des coupes est de 3µm. Ces dernières sont recueillies sur des lames de verre propres dans un bain Marie et étalée à l'aide d'une solution gélatinée à 0.4% (fiche technique N°5, Annexe) .

II-2-7. Déparaffinage des coupes

Avant la coloration les coupes doivent être débarrassées de la paraffine en plaçant les lames dans une étuve pendant 24H et ensuite dans un bain de xylène pendant 30 minutes, elles sont après hydratées dans des bains d'alcools à degré décroissants (100°, 90°, 70°, eau distillée) pendant quelques secondes.

II-2-8. Coloration topographique des coupes

Nous avons utilisé deux types de colorations dans cette étape : (fiche technique N°6 et fiche technique N°7, Annexe)

- **L'Hématoxyline éosine (HE):** Qui est la méthode de coloration des tissus biologiques la plus courante et qui comporte deux colorants, l'hématoxyline qui colore en bleu violacé les structures basophiles (noyaux) et l'éosine qui colore les structures acidophiles (cytoplasme).

- **Le Trichrome de Masson** : Cette méthode utilise trois colorants qui teintent les différents composants tissulaires, elle est formée d'un colorant nucléaire l'hématoxyline de Groat, un colorant cytoplasmique la Fuchsine-Ponceau qui est un colorant de fond et le Vert Brillant qui permet la coloration des fibres de collagène.

II-2-9. Montage des coupes

Pour l'étude topographique, une fois colorée les coupes sont déshydratées dans des bains d'alcools à degrés croissants (70°, 90°, 100°) et un bain de xylène pendant quelques secondes. Elles sont montées entre lame et lamelle avec l'Eukitt et elles sont prêtes pour l'observation au microscope photonique.

II-2-10. Observation

Pour le Trichrome de Masson les noyaux sont colorés en noir, le cytoplasme et les nucléoles en rose, les muscles en rouge et enfin les fibres élastiques et collagène en vert. Pour l'hématoxyline éosine, les noyaux en noir et le cytoplasme en rose .

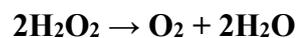
III. Technique analytique

III-1. Dosage des paramètres enzymatiques

III-1-1 Dosage de la catalase hépatique et rénale (au niveau la faculté des sciences UMBB)

Principe

La catalase est une enzyme (EC (1.11.1.6) catalysant la disparition de l'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène H₂O₂) suivant la réaction :



Le principe de la détermination de l'activité enzymatique est basé sur la mesure de la vitesse de la disparition de H₂O₂ en présence de la source enzymatique à 560 nm.

Extraction de la catalase

L'extrait enzymatique est préparé comme suit : environ 0,3 g du foie et de reins sont broyés en présence de l'azote liquide, l'homogénat est centrifugé à 2000 tours/min durant 30 minutes à +4°C. Le surnageant est récupéré et conservé à -20°C.

Protocole

1ml de Tampon phosphate (fiche technique N°4, Annexe) +975ml H₂O₂+25ul d'échantillon

La mesure de l'absorbance est réalisée à 560 nm à la première et 2ème minutes et l'activité enzymatique est calculée en terme d'unité internationale par minute par gramme de protéine (UI/min/g de protéine) selon la formule :

$$\text{CAT(UI/g)} = (2,03033/T) \times (\log A1/A2)/\text{g de protéine}$$

A1 : Absorbance à la première minute.

A2 : Absorbance à la deuxième minute.

T : Intervalle de temps en minute.

III.1-2. Dosage du NO hépatique et rénal (à l'USTHB)

Principe

La formation du NO est évaluée d'une façon indirecte par la détermination des concentrations des nitrites (NO₂⁻) et des nitrates (NO₃⁻) qui sont des produits de dégradation oxydative de NO. Le rein et le foie des 4 lots (T, D, TT, TD) sont broyés avec un tampon de lyse dans l'azote liquide puis l'homogénat est centrifugé pendant 10 minutes, le surnageant est récupéré par la suite. La réaction de Griess permet uniquement de mesurer les nitrites. Les nitrates doivent être préalablement réduits en nitrites pour être quantifier, la concentration ainsi mesurée représente la somme des nitrites et nitrates et la transformation des nitrates en nitrites est basée sur la réaction de réduction par le cadmium généré à l'aide d'une solution de sulfate de cuivre CuSO₄ (5 Mm) dans un tampon glycine NaOH. Les nitrites contenus dans les compartiments intracellulaires déprotéinés et régénérés sont quantifiés après addition du réactif de Griess (0,1% N-(naphthyl) ethylènediamine dihydrochloride, 1% sulfanilamide, 5% acide phosphorique). La lecture de la DO est effectuée à 543 nm. Une gamme étalon est réalisée avec du nitrites de sodium (NaNO₂). (**Heat El et al., 1968**).

Mode opératoire

0,3 g du foie et du rein sont broyés avec 1ml de tompon de lyse en présence d'azote liquide. L'homogénat est centrifugé à 400 r/mn à 4°C pendant 30 minutes.

IV. Analyse statistiques

Pour chaque série d'analyse, nous avons calculé la moyenne X et l'écart type δ .

- La moyenne

On appelle la moyenne d'une variable X la moyenne arithmétique des valeurs prises par X

$$\bar{X} = \frac{\sum n_i x_i}{N}$$

- L'écart type

C'est la racine carrée de la variance : c'est un écart moyen entre la variable et sa moyenne.

$$\delta^2 = \frac{\sum n_i (x_i - \bar{x})^2}{N}$$

Les résultats sont présentés par les moyennes affectées de l'écart type. L'analyse de variance d'ANOVA affecté *au test de Scheffe* est effectué pour la comparaison des moyennes .

La différence est :	- Non significative si	$P > 0.05$
	- Peu significative si	$P \leq 0.05 (*)$
	- Significative si	$P \leq 0.01 (**)$
	- Très significative si	$P < 0.01 (***)$
	- Hautement significative si	$P < 0.0001 (\#)$

Résultats

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'effet du thiabendazole et/ou du thé vert sur le foie et le rein du rat blanc *Rattus Norvegicus* pendant un mois. Dans notre étude, nous avons évalué l'évolution du poids corporel, le poids relatif du foie et du rein, la structure histologique de ces deux organes et même le taux du NO et l'activité catalase hépatique et rénale.

I. Evolution du poids corporel des animaux (Tableau II, Fig.11)

Tableau II : Valeurs moyennes du poids corporel des rats blancs *Rattus norvegicus* témoins (T), témoins-thé (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole-thé (TD) traités pendant un mois.

Temps	Témoin (T)	témoin-thé(TT)	Thiabendazole (D)	Thiabendazole-thé (TD)
S1	241,4±18,20	210,4±12,75	208,8±20,92	181,8±20,94
S2	251±16,13	216,2±14,63	205,6±17,88	186,4±17,83
S3	250,6±28,91	222±17,36	215,4±18,46	192,9±17,89
S4	262,2±19,42	229,4±14,90	223±18,35	202,3±14,23

Les valeurs sont présentées par les moyennes affectées de l'écart type

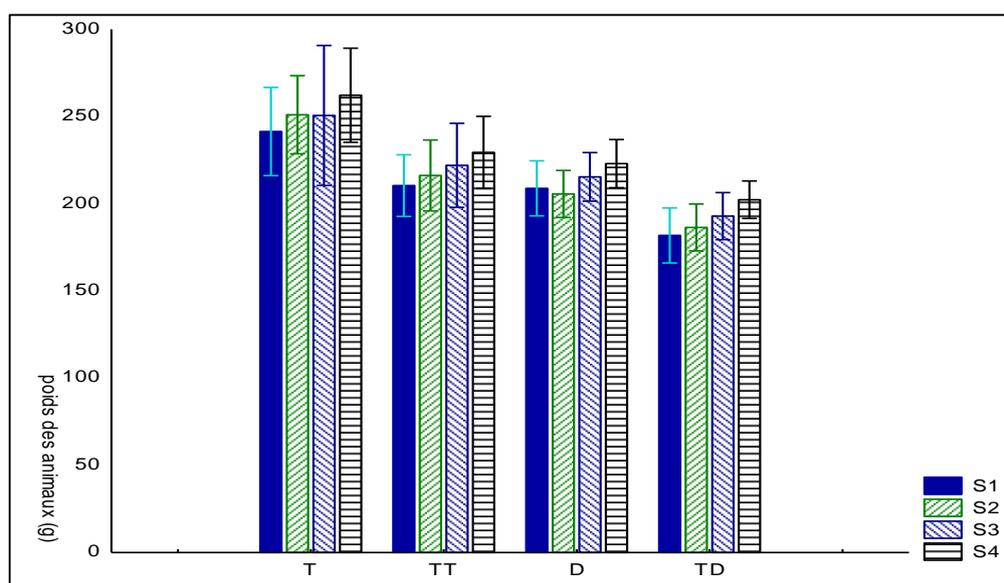


Figure 11 : Evolution du poids corporel des rats blancs *Rattus norvegicus* témoins (T), témoins-thé (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole-thé (TD)

Nous avons effectué un suivi hebdomadaire du poids corporel pour une durée d'un mois d'expérimentation. A la fin de l'analyse statistique, les moyennes des poids corporels ont montré une diminution statistique non significative ($P>0.05$) entre les différents lots.

On remarque une légère augmentation du poids corporel pour les rats traités par le thé vert (TT), nous avons noté un poids moyen de 210,4±12,75g en S1 et 229,4±14,90g en S4 par rapport aux rats traités par le thiabendazole et le thé vert (TD), le poids moyen est de 181,8±20,94g en S1 et de 202,3±14,23g en S4. En outre, l'analyse statistique des moyennes des poids corporels a montré une diminution statistique non significative ($P>0.05$) dans le même lot pour les quatre lots durant les quatre semaines de traitement.

II. Evaluation du poids relatif du foie et le poids relatif des reins (Tableau 3, Fig.12)

Tableau III : Valeurs moyennes du poids relatifs du foie et de reins chez les rats témoins (T), témoins-thé (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole plus thé (DT)

Paramètres	Lots			
	Témoins	Témoins-thé	Thiabendazole	Thiabendazole-thé
Poids corporel (g)	262,2 ± 19,42	229,4 ± 14,90	223 ± 18,35	202,3 ± 14,23
Index de masse hépatique	0,044 ± 0,0035	0,038 ± 0,0055	0,040 ± 0,0056	0,039 ± 0,0048
Index de masse rénale	0,006 ± 0,0009	0,007 ± 0,0011	0,007 ± 0,0009	0,007 ± 0,0007

Les valeurs sont données en moyenne ± Ecart type

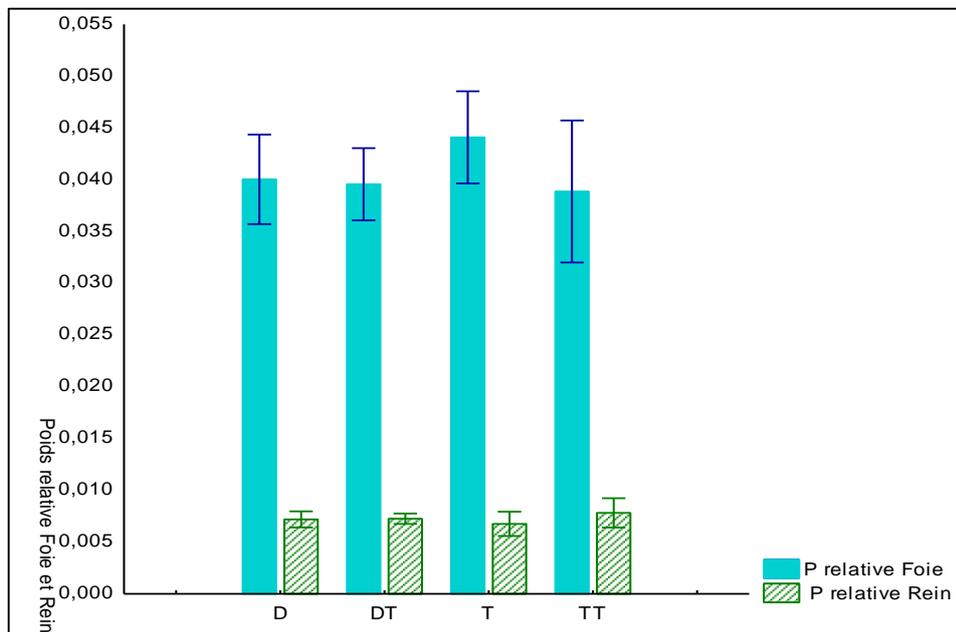


Figure 12: Evaluation du poids relatifs du foie et des reins chez les rats témoins (T), témoins-thé (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole plus thé (DT)

L'analyse de l'évolution du poids relatif du foie et du rein est faite par l'évaluation de l'index de masse rénale et hépatique, les résultats obtenus représentés dans le tableau N°3 ,montrent une diminution non significative pour ces paramètres étudiés ($P > 0.05$), notamment entre le poids relatifs du foie chez les rats témoins ($0,044 \pm 0,0035g$) et les rats traités au thiabendazole ($0,040 \pm 0,0056g$).

On remarque également une diminution non significative ($P > 0.05$) entre le poids relatifs du foie chez les rats traité par le thé vert ($0,038 \pm 0,0055g$) et les rats recevant du thiabendazole plus thé vert ($0,039 \pm 0,0048g$). Par contre, on constate qu'il n'y a aucune variation significative concernant l'index rénale pour tous les animaux .

Résultats

III. Evaluation du poids des organes (foie et reins) des animaux (Tableau IV, Fig.13)

Tableau IV : Valeurs moyennes du poids de foie et des reins chez les rats témoins (T), témoins-thé (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole plus thé (DT)

Paramètres	Lots			
	Témoins	Témoins-thé	Thiabendazole	Thiabendazole-thé
Poids corporel (g)	262,2 ± 19,42	229,4 ± 14,90	223 ± 18,35	202,3 ± 14,23
Poids de foie (g)	11,533 ± 0,82	8,883 ± 0,004	8,848 ± 0,71	7,994 ± 1,03
Poids de reins (g)	1,763 ± 0,28	1,780 ± 0,18	1,5872 ± 0,13	1,46 ± 0,14

Les valeurs sont données en moyenne ± Ecart type

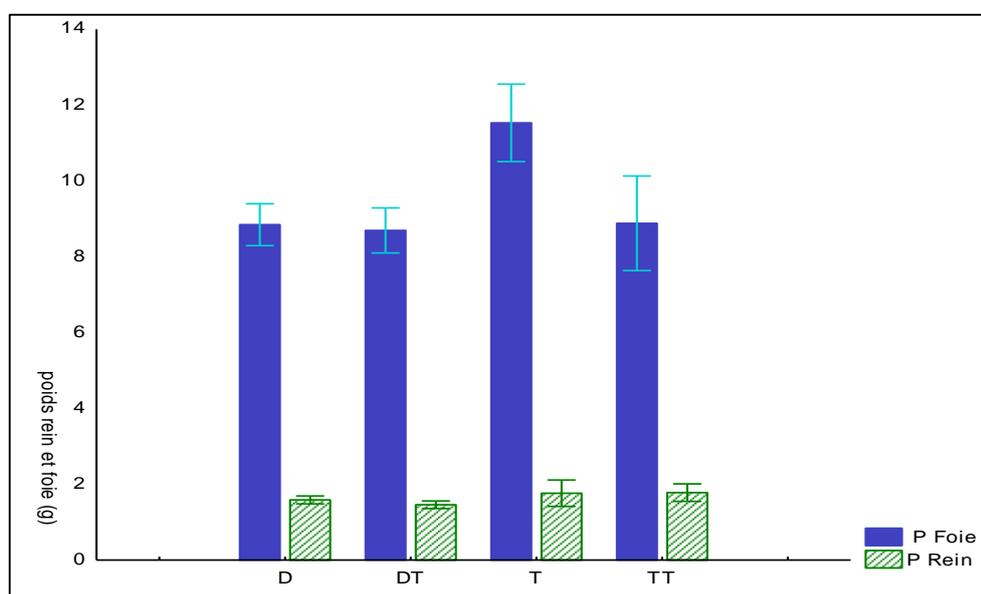


Figure 13: Evaluation du poids de foie et de reins chez les rats témoins (T), témoins-thé (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole plus thé (DT)

Après l'analyse statistique des moyennes des poids des organes (foie et reins) prélevés lors du sacrifice, les résultats représentés dans le tableau N°4 montrent d'une part, une diminution peu significative ($P \leq 0,05$) entre le poids du foie chez les rats témoins ($11,533 \pm 0,82$ g) et les rats recevant du thiabendazole ($8,848 \pm 0,71$ g).

On remarque également une diminution non significative ($P > 0,05$) entre le poids du foie chez les rats traités par le thé vert ($8,883 \pm 0,004$ g) et les rats recevant du thiabendazole plus thé vert ($7,994 \pm 1,03$ g). Concernant le poids des reins, on remarque une variation peu significative ($P \leq 0,05$) entre le poids des reins des rats traités par le thé ($1,780 \pm 0,18$ g) et le poids des reins des rats recevant du thiabendazole plus thé vert ($1,46 \pm 0,14$ g).

IV. Evaluation du taux du NO hépatique et rénal

IV.1. Evaluation du NO hépatique, (Tableau V, Fig.14)

Tableau V: Valeurs moyennes du NO hépatique chez les *Rattus norvegicus* témoins (T), témoins thé vert (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole + thé vert (DT)

Paramètres	Lots			
	Témoins	Témoin-thé	Thiabendazole	Thiabendazole-thé
Index du NO hépatique	^a 1,932±0,242	^b 2,625±0,208	^c 3,884±0,498 ^{#a,d}	^d 1,576±0,235 ^{***b}

Les valeurs sont données en moyenne ± Ecart type

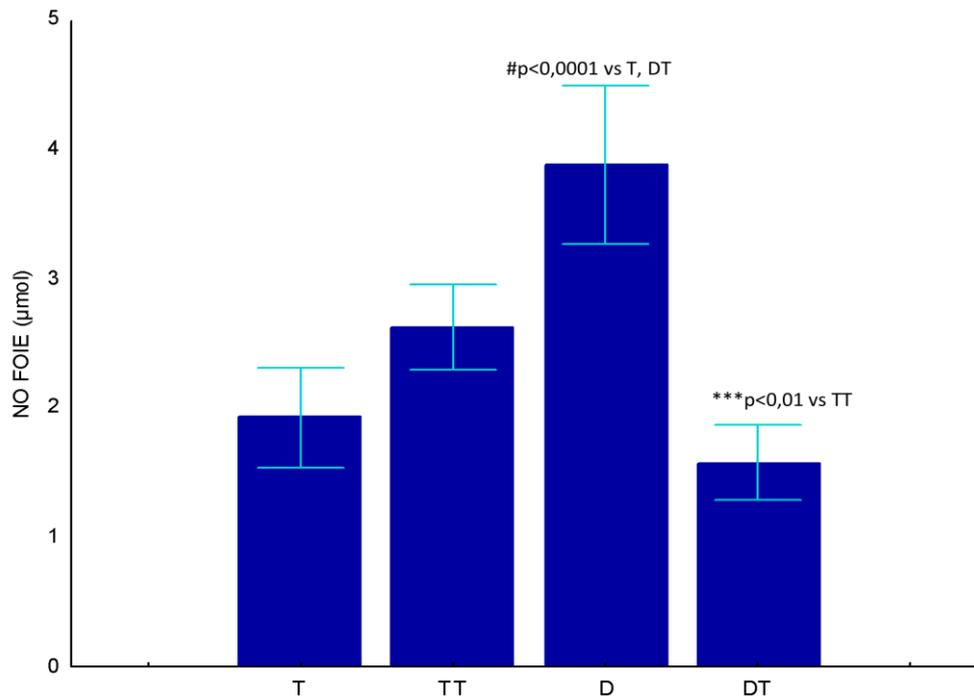


Figure 14: Evaluation du NO hépatique chez les *Rattus norvegicus* témoins (T), témoins thé vert (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole + thé vert (DT)

Nous avons déterminé les taux du NO hépatique afin d'évaluer le statut redox. Nos résultats sont illustrés dans le tableau N°5. Chez les rats recevant du thiabendazole (D), nous avons noté une augmentation hautement significative ((3,884±0,498, P<0,0001) du taux de NO hépatique par rapport aux rats témoins (T) (1,932±0,242). De même, on constate une différence hautement significative entre les rats recevant du thiabendazole (D) et ceux traités par le thiabendazole plus thé vert (DT) (3,884±0,498 vs 1,576±0,235, P<0,0001). Par contre, nous avons relevé une diminution très significative du taux de NO hépatique chez les rats recevant du thiabendazole plus thé vert (DT) par rapport aux rats témoins thé (TT) (1,576±0,235 vs 2,625±0,208, P<0,01) .

IV.2. Evaluation du NO rénal, (Tableau VI, Fig.15)

Tableau VI: Valeurs moyennes du NO rénal chez les *Rattus norvegicus* témoins (T), témoins thé vert (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole + thé vert (DT)

Paramètres	Lots			
	Témoins	Témoïn-thé	Thiabendazole	Thiabendazole-thé
Index du NO rénal	^a 2,57±0,275	^b 2,52±0,213	^c 7,486±0,577 ^{#a, b, c}	^d 4,114±0,506 ^{***b}

Les valeurs sont données en moyenne ± Ecart type

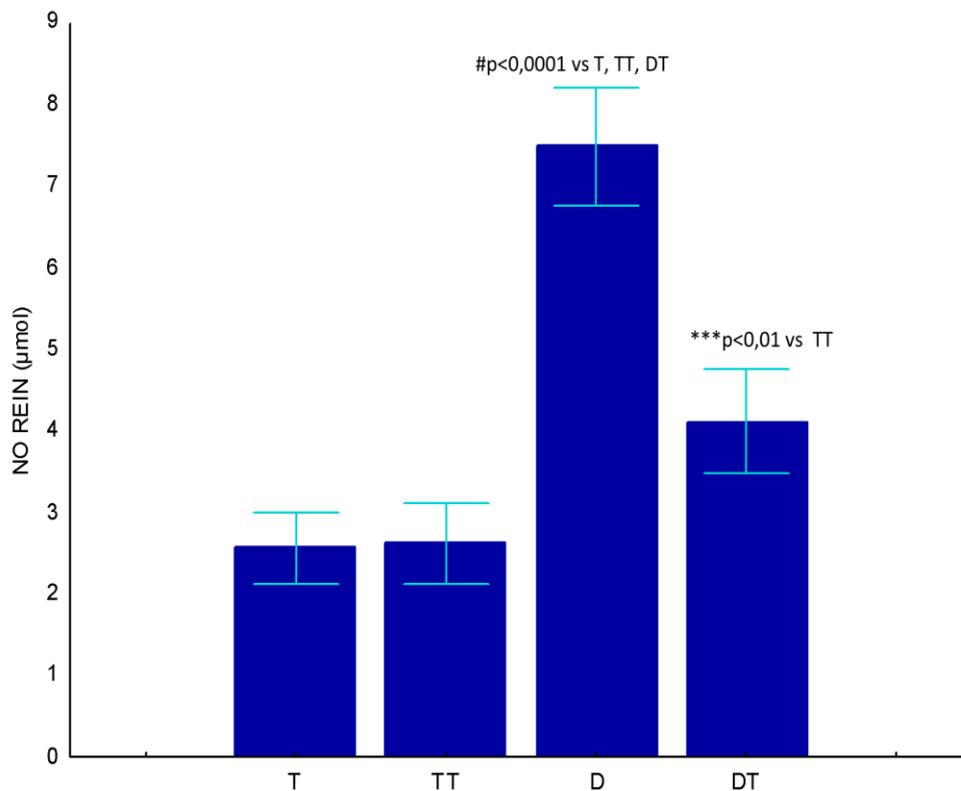


Figure 15: Evaluation du NO rénal chez les *Rattus norvegicus* témoins (T), témoins thé vert (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole + thé vert (DT)

Les résultats montrant l'effet de l'administration du thiabendazole et du thé vert sur le taux de NO rénal sont représentés dans le tableau N°6. Chez les rats recevant du thiabendazole, nous avons noté une augmentation hautement significative du taux de NO rénal par rapport aux rats témoins (7,486±0,577 vs 2,57±0,275, P<0,0001). Nous avons également relevé une augmentation très significative du taux de NO rénal chez les rats ayant reçu du thiabendazole plus thé vert par rapport aux rats témoins thé (4,114±0,506 vs 2,52±0,213, P<0,01). Par contre, on constate une diminution hautement significative (P<0,0001) du taux rénal de NO chez les rats recevant du thiabendazole plus thé vert par rapport à ceux traités par la thiabendazole .

V. L'évaluation du taux de la catalase hépatique et rénale.

V.1. Evaluation de la catalase hépatique (Tableau VII, Fig.16)

Tableau VII : Valeurs moyennes de la catalase hépatique chez les *Rattus norvegicus* témoins (T), témoins thé vert (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole + thé vert (DT)

Paramètres	Lots			
	Témoins	Témoin-thé	Thiabendazole	Thiabendazole-thé
Cat (Foie)	^a 0,0013±0,00012	^b 0,0017±0,00026	^c 0,00074±0,000026 ^{***a, #b}	^d 0,00081±0,00011 ^{***a, #b}

Les valeurs sont données en moyenne ± Ecart type

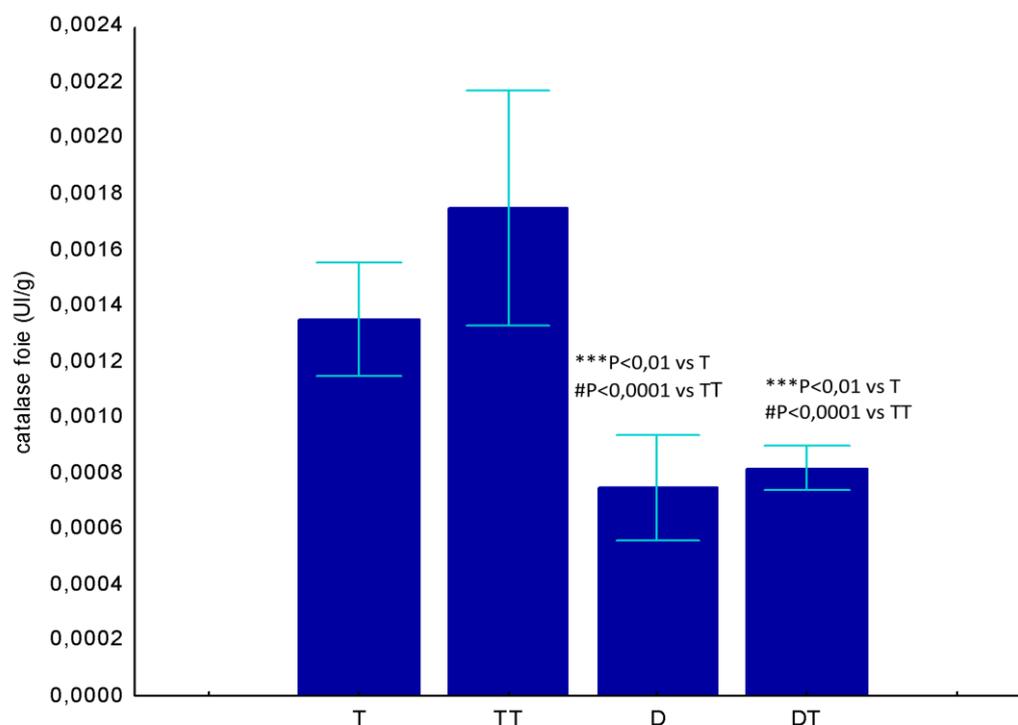


Figure 16 : Evaluation de la catalase hépatique chez les *Rattus norvegicus* témoins (T), témoins thé vert (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole + thé vert (DT) .

L'effet de l'administration du thiabendazole et du thé vert sur la catalase est illustré dans la figure 16. Nos résultats montrent une diminution très significative ($p < 0,01$) de l'activité de la catalase hépatique chez les rats recevant du thiabendazole ($0,00074 \pm 0,000026$ UI/ min /g) par rapport aux témoins ($0,0013 \pm 0,00012$ UI/min/g), cette activité est hautement diminuée ($p < 0,0001$) par rapport aux témoins thé ($0,0017 \pm 0,00026$ UI/min/g). Chez ces derniers, l'activité de la catalase hépatique est hautement significative ($p < 0,0001$) par rapport aux rats recevant du thiabendazole plus le thé vert ($0,00081 \pm 0,00011$) .

V.2. Evaluation de la catalase rénale (Tableau VIII, Fig.17)

Tableau VIII: Valeurs moyennes de la catalase rénale chez les *Rattus norvegicus* témoins (T), témoins thé vert (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole + thé vert (DT)

Paramètres	Lots			
	Témoins	Témoin-thé	Thiabendazole	Thiabendazole-thé
Cat (rein)	^a 0,0026±0,00025	^b 0,0035±0,00038	^c 0,0016±0,00027 ^{#a,b,d}	^d 0,0025±0,00028 ^{a, #b}

Les valeurs sont données en moyenne ± Ecart type

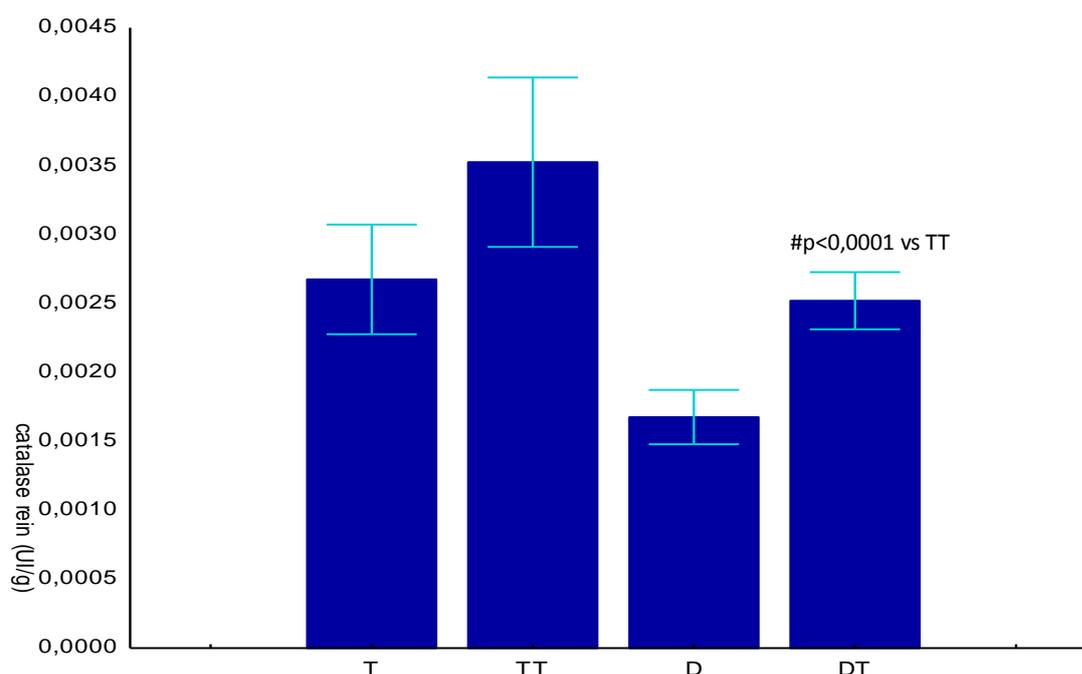


Figure 17: Evaluation de la catalase rénale chez les *Rattus norvegicus* témoins (T), témoins thé vert (TT), Thiabendazole (D), Thiabendazole + thé vert (DT)

L'effet de l'administration du thiabendazole et du thé vert sur la catalase est représenté par la figure 17. Nos résultats montrent une diminution hautement significative ($p < 0,0001$) de l'activité de la catalase rénale chez les rats recevant du thiabendazole ($0,0016 \pm 0,00027$ UI/min/g) par rapport aux témoins ($0,0026 \pm 0,00025$ UI/min/g), l'activité est hautement diminuée ($p < 0,0001$) par rapport aux témoins thé ($0,0035 \pm 0,00038$ UI/min/g) et les rats traités au thiabendazole plus thé vert ($0,0025 \pm 0,00028$). Chez ces derniers, l'activité de la catalase rénale est hautement significative ($p < 0,0001$) par rapport aux rats témoins thé ($0,0035 \pm 0,00038$) mais elle est non significative ($p > 0,05$) par rapport aux rats témoins.

VI. Etude structurale du rein et du foie

Une étude histologique a été effectuée afin de déterminer l'effet de l'administration du thiabendazole et du thé vert sur le rein et le foie du lot témoin et les altérations qui peuvent être observées dans les groupes traités

PLANCHE I

STRUCTURE HEPATIQUE DU RAT WISTAR TEMOIN T et TT
Coloration Trichrome de Masson

1

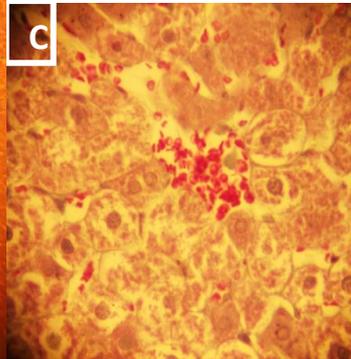
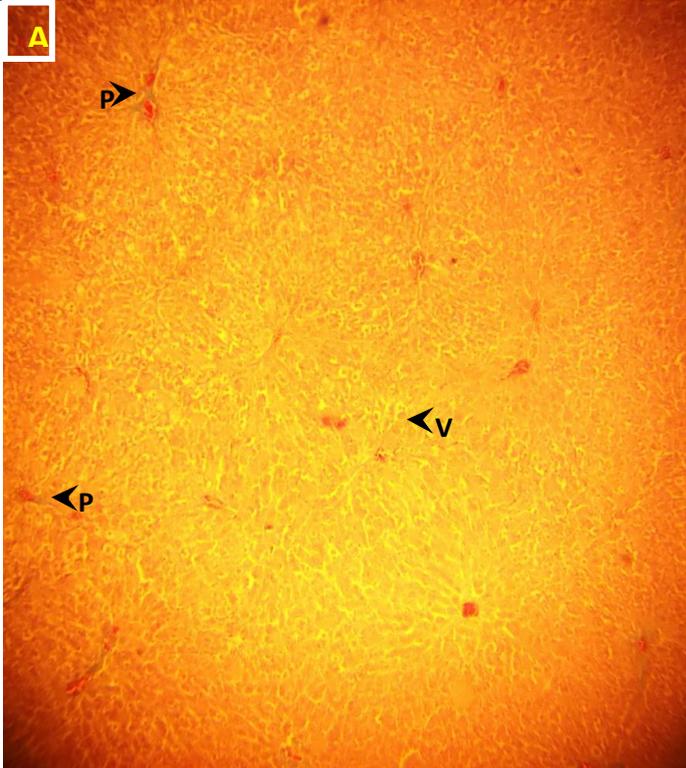


Figure 1 : Structure du foie du Rat wistar témoin (A :Gr :40, B :Gr :100 , C. Gr :100)Les hépatocytes sont étroitement liés les uns aux autres. Les espace porte (P) renferme une veine porte (V), l'aorte (A) et le canal biliaire (CB) responsables du (Fig. 1B).

Les hépatocytes sont polyédriques à noyau arrondie avec une chromatine périphérique et un nucléole proéminent (Fig. 1C)

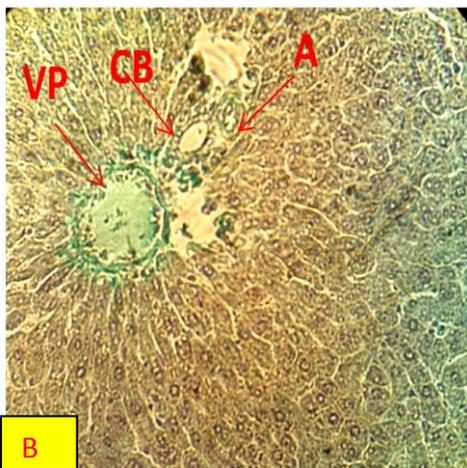


Figure 2 : Structure du foie du Rat wistar du Lot TT (Gr :400)

Le Lot TT ne semble pas présenter de grande différence histologique avec le témoin T

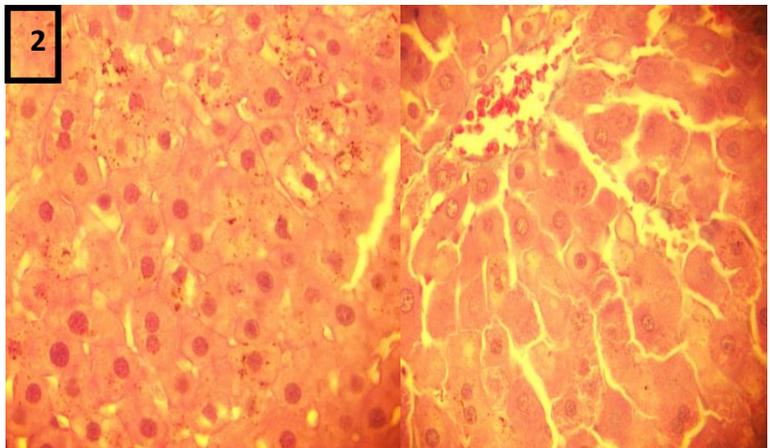


PLANCHE II

STRUCTURE HEPATIQUE DU RAT WISTAR ADMINISTRE AU
THIABENDAZOLE

Coloration Trichrome de Masson

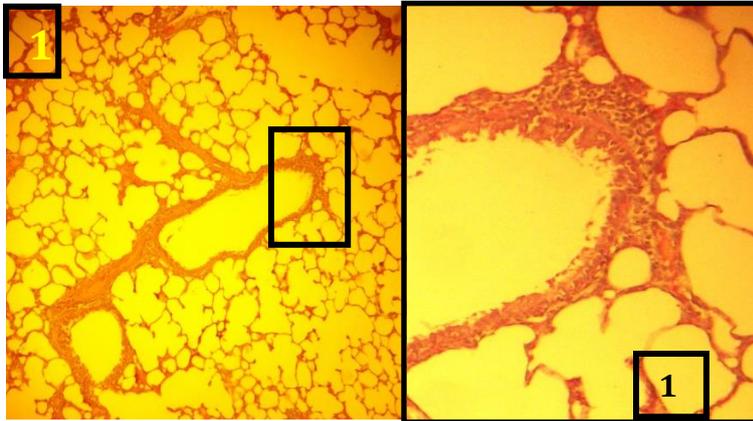


Figure 1 : Structure du foie du Rat wistar du Lot D
Nous observons une désorganisation structurale et de grands espaces œdémateux (Gr :40) ainsi qu'une accumulation de collagène en position périvasculaire (Encadré 1' Gr : 100)

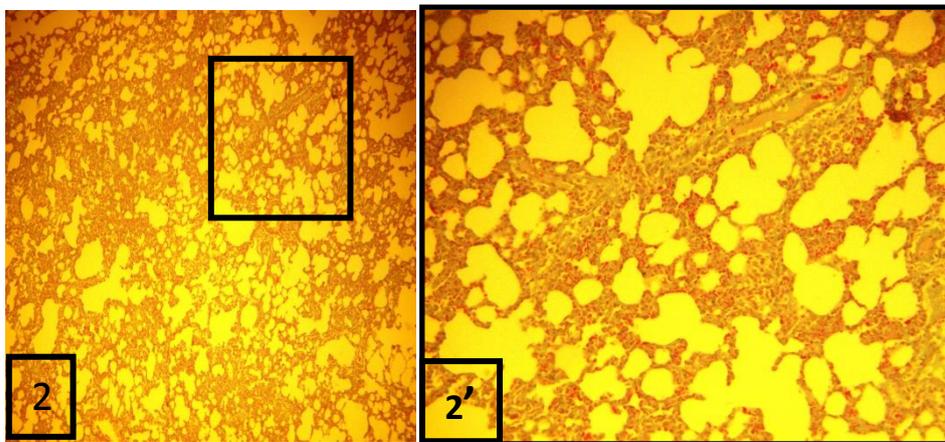


Figure 2 : Structure du foie du Rat wistar du Lot TD (Fig. 2 : Gr :40 ; Fig. 2' :Gr :100)
Nous observons la présence des œdèmes qui sont moins importants que ceux du Lot D
Une accumulation de collagène en position périvasculaire (Encadré 2').

PLANCHE III

STRUCTURE HEPATIQUE DU RAT WISTAR ADMINISTRE AU
THIABENDAZOLE ET AU THE VERT

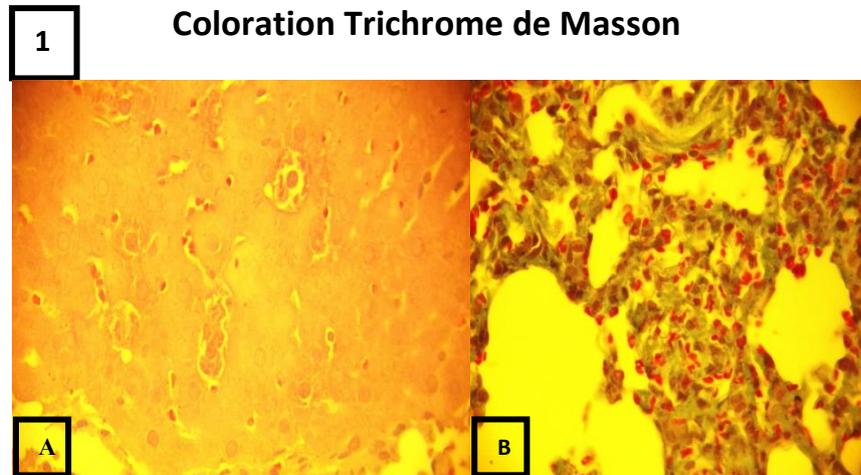


Figure 1 : Structure du foie du Rat wistar du Lot D (A : Gr :400 ; B :Gr :100 ; C :Gr :1000)

Le Thiabendazole a induit une diminution drastique du nombre et du Volume hépatocytaire (Fig. A et B)

Importante vascularisation dû au phénomène d'époxy (Fig. B)

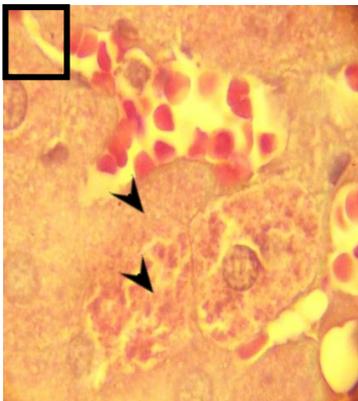


Figure 2 : Structure du foie du Rat wistar du Lot D (Gr :1000)
Nous observons des hépatocyte dépourvus de noyau ainsi qu'une hétérogénéité tinctorial cytoplasmique flèches noires (Fig. 5C).

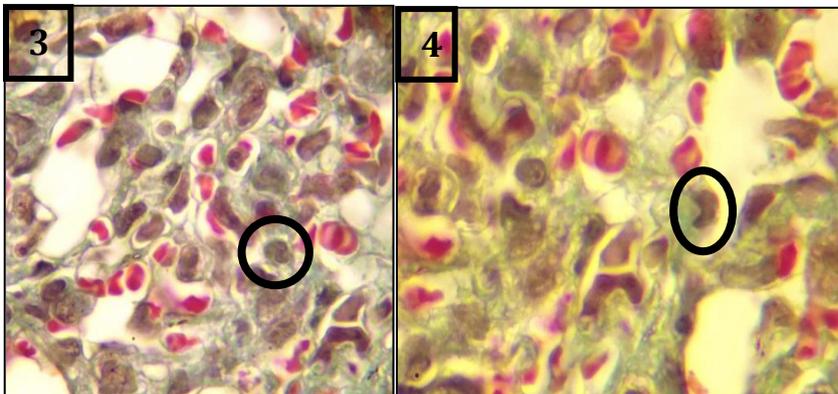


Figure 3 et 4: Lot TD

(Fig. 3 Gr : 1000 ;

Fig. 4 Gr : 1000 x 2)

La présence de polynucléaires neutrophiles (cercle noir) semble indiquer l'installation d'un début d'inflammation.

PLANCHE IV

STRUCTURE RENALE DU RAT WISTAR TEMOIN
Coloration Trichrome de Masson

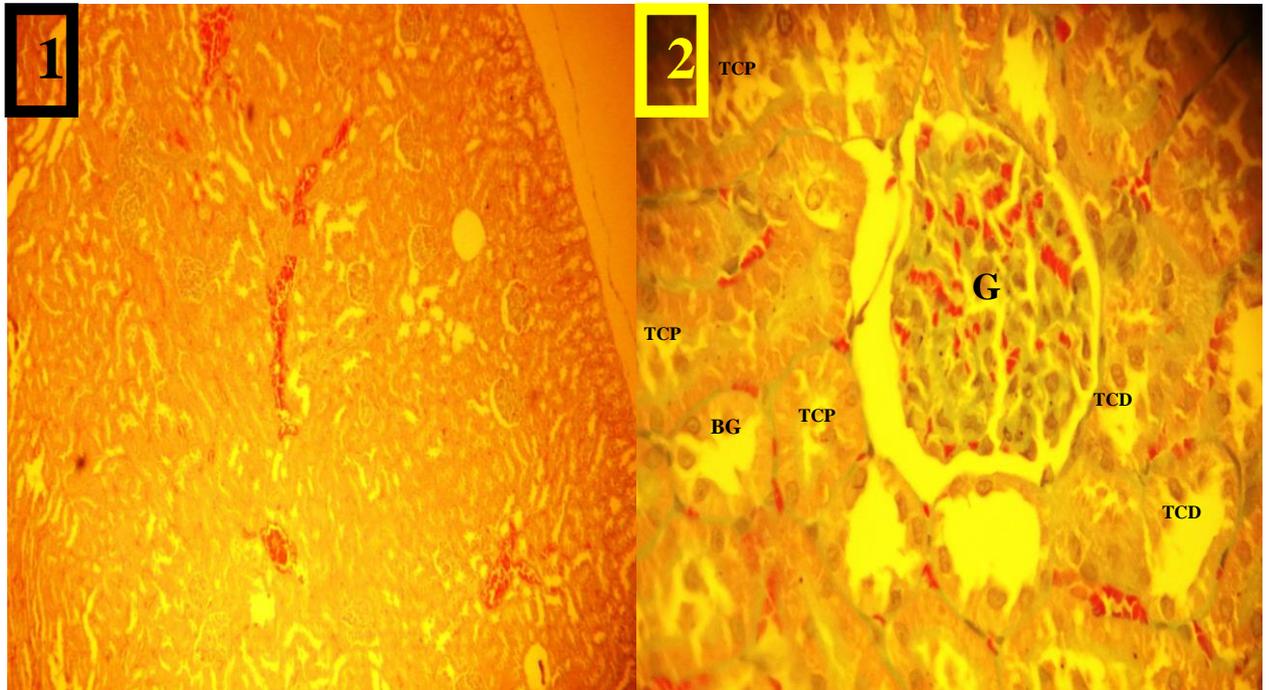


Figure 1 et 2 : Structure du rein du Rat wistar témoin (Fig.1 : Gr : 40 ; Fig. 2 :Gr 100)
Fig.2 : Coupe transversale montrant que le tissu rénal est formé de glomérule (G), de tube contourné proximal identifier par son épithélium cubique simple et .Le tube contourné distal est caractérisé par une lumière plus large et mieux limité BG :Branche grêle de l'anse de Henlé avec une lumière large ,
BG: branche grêle, TCP: tube contourné proximal ,
TCD: tube contourné distal.

PLANCHE V

**STRUCTURE RENALE DU RAT WISTAR TEMOIN THE
COLORATION HEMATOXYLINE EOSINE**

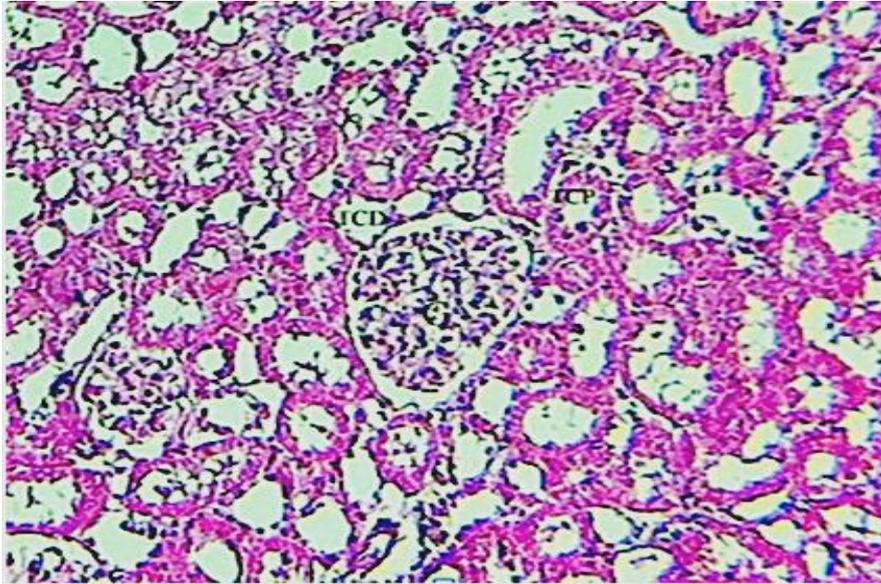


Figure 1 : Structure du rein rat wistar du lot témoin thé , il représente la même structure histologique que le témoin

PLANCHE VI

STRUCTURE RENALE DU RAT WISTAR ADMINISTRE AU THIABENDAZOLE
Coloration Trichrome de Masson

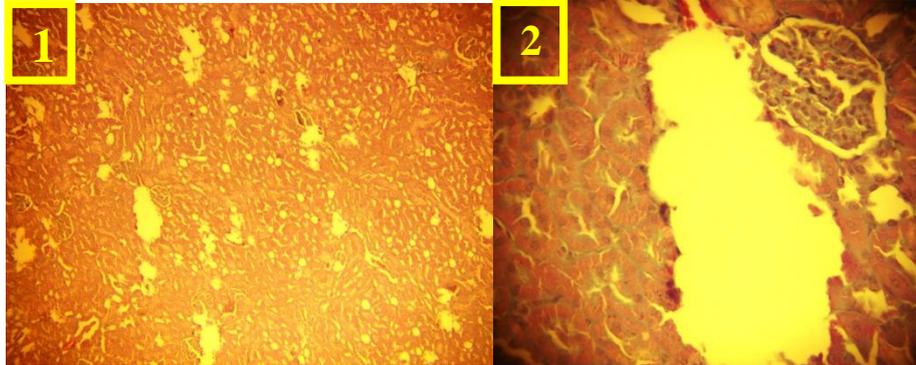


Figure 1 et 2 : Structure du foie du Rat wistar du Lot D (Fig. 1 : Gr : 40 ; Fig. 2 : Gr :400)
Nous observons des espaces plus ou moins importants entre les différents éléments composant le cortex (Fig. 1), un vaisseau dépourvu de son endothélium et une accumulation de collagène entre les différents tubes (Fig.2)

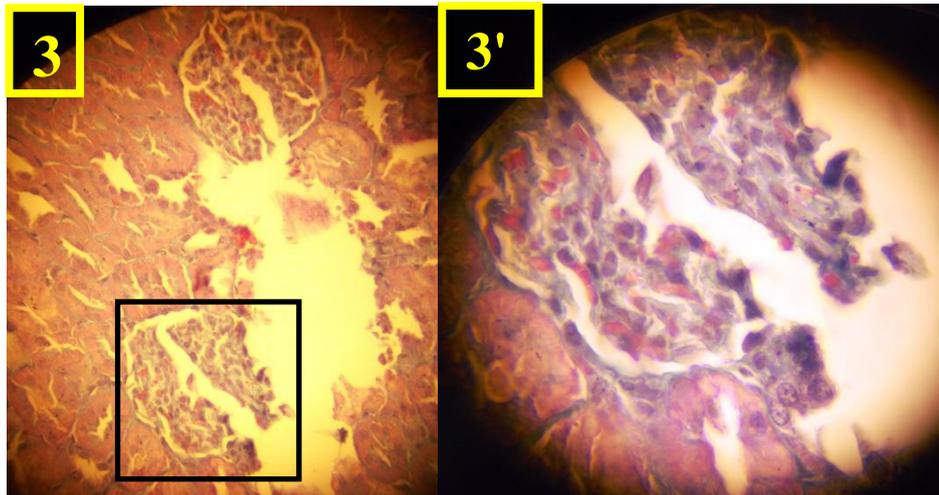


Figure 3 : (Gr : 40)
Désorganisation glomérulaire très apparente (Encadré 3' : Gr :1000)

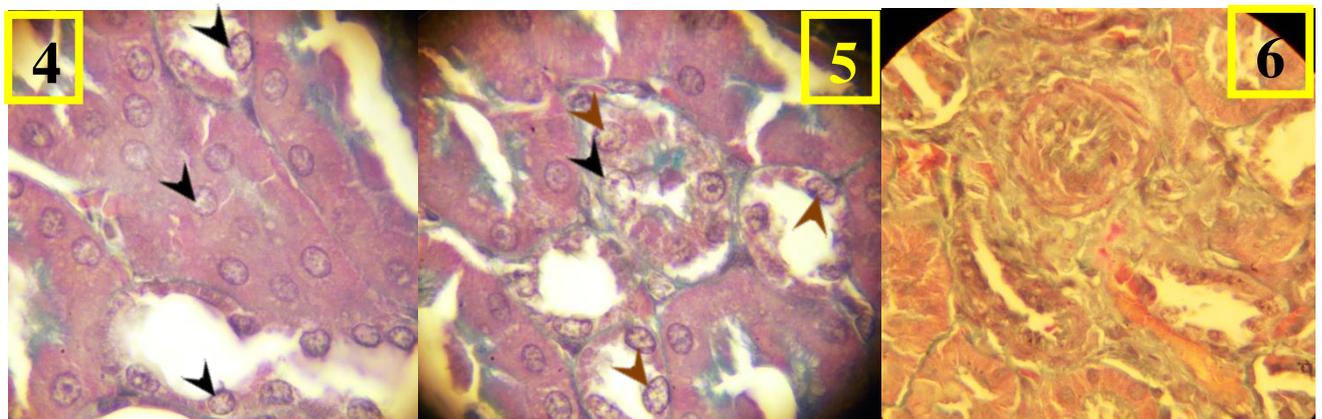


Figure 4, 5 et 6 : (Fig. 4 et 5:Gr : 1000 x2 Fig. 6 : Gr : 1000)
Les noyaux observés au niveau de certaines cellules présentent un aspect apoptotique (Flèches noires) d'autres sont pâles (Flèches marron). La présence d'une fibrose et d'une désorganisation glomérulaire (Fig. 6)

PLANCHE VII

STRUCTURE RENALE DU RAT WISTAR ADMINISTRE AU
THIABENDAZOLE ET AU THE VERT
Coloration Trichrome de Masson

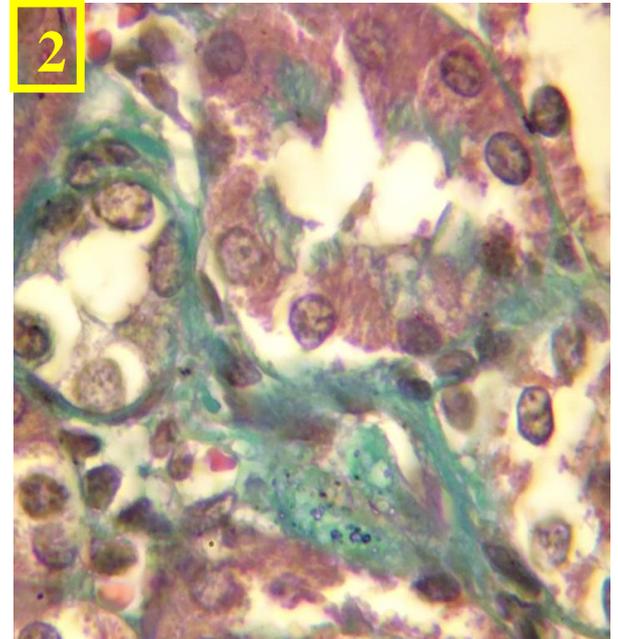
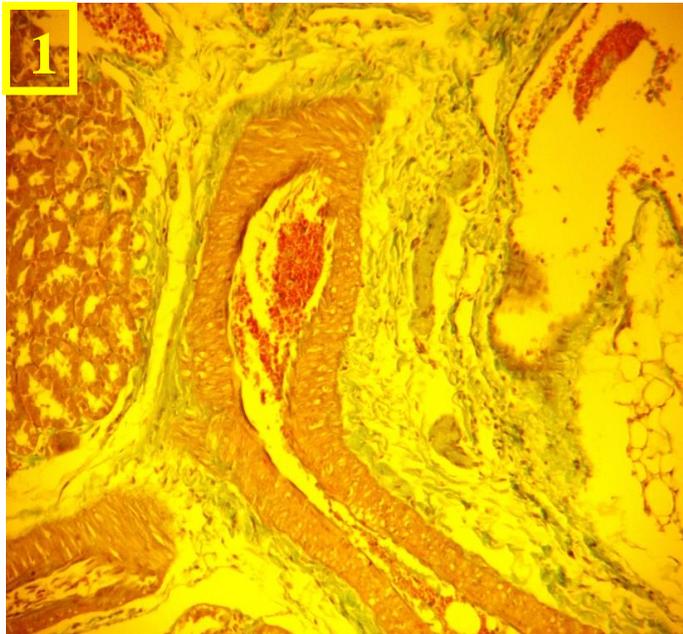


Figure 1 et 2 : (Fig. 1 : Gr :100 ; Fig.2 : Gr : 1000)

Nous observons une fibrose périvasculaire (Fig.1) et interstitielle (Fig.2)

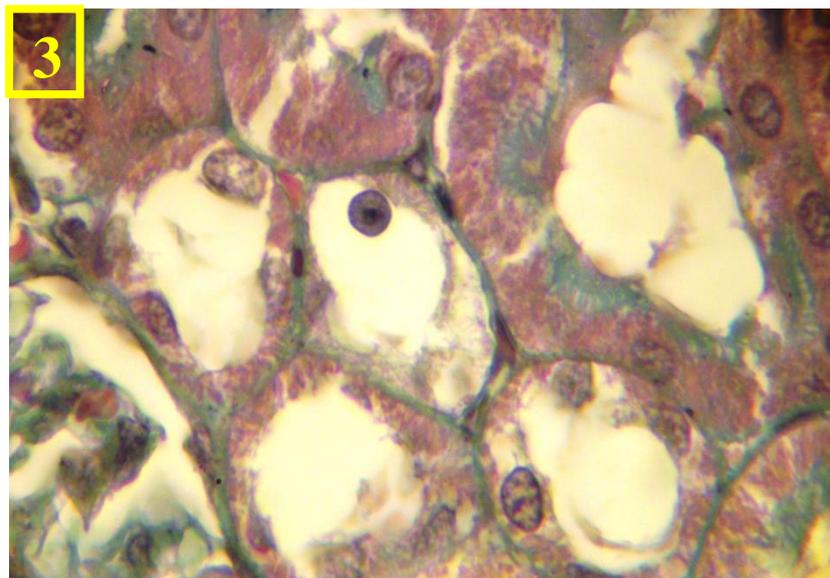


Figure 3 : (Gr : 1000)

Certaines cellules présentent des noyaux hypertrophiés et pâles (flèches bleues)

Le but de ce travail est d'étudier l'impact d'administration du thiabendazole et/ou du thé vert sur le foie et le rein de *Rattus Norvegicus* et l'évaluation de l'activité de la catalase et le taux du NO hépatique et rénal.

I. Poids corporel

Les résultats de notre expérimentation concernant l'effet du thiabendazole et le thé vert sur l'évolution du poids corporel montrent que les rats administrés au le thiabendazole ont présenté une diminution peu significative par rapport aux rats témoins. On remarque également une diminution hautement significative du poids corporel chez les rats traités par le thé vert par rapport aux rats recevant du thiabendazole plus thé vert .

Nos résultats ne sont pas en accord avec les résultats obtenus par **Wolfe et Squibb (1994)** qui ont étudié l'effet d'administration du thiabendazole à des rats *Sprague Dawley* à des doses de 30 et 91 mg/kg/jour pendant 104 semaines, ces auteurs ont enregistré une diminution significative du poids corporel chez les rats traités par le thiabendazole par rapport aux rats témoins. Par contre dans une étude menée par **Wise en (1990)** qui a administré à des rats *Sprague-Dawley* du thiabendazole par gavage à des doses de 10, 40 ou 80 mg/kg/j pendant 17 jours a relevé une légère diminution de la consommation de l'aliment suivi d'une diminution non significative du poids corporel des rats recevant du thiabendazole à la dose de 40 et 80 mg/kg/j par rapport aux rats témoins .

II. Poids relatif du foie

L'évaluation du poids relatif des organes tel que les reins ou le foie représente un paramètre déterminant de la toxicité comme indicateur de l'atrophie ou de l'hypertrophie. Les résultats de notre expérimentation, concernant le poids relatif du foie des rats traités par le thiabendazole montrent une diminution non significative en comparaison avec les rats témoins. Chez les rats traités par le thiabendazole plus thé vert, nous avons également observé une diminution non significative du poids relatif du foie par rapport aux rats traités par le thé vert. De plus, le poids relatif du foie des rats traités par le thé vert ne change pas de manière significative par rapport aux témoins.

Nos résultats ne sont pas en accord avec ceux obtenus par **Wolfe et Squibb en (1994)** qui ont évalué l'effet de l'administration *per os* du thiabendazole (à 98,9% de pureté) à des rats *Sprague Dawley* à des doses de 30 et 91 mg/kg/jour pendant 104 semaines, ces auteurs ont révélé que le poids relatif du foie des rats traités au thiabendazole était significativement augmenté par rapport

à celui des rats témoins, cette augmentation est accompagnée d'une hypertrophie centrolobulaire aux doses moyennes et élevées.

III. Le poids relatif des reins

Après évaluation de l'index de masse rénale (poids relatif du rein), nous avons enregistré un index rénal est de $0,007 \pm 0,0009$ pour les rats recevant du thiabendazole par rapport aux rats témoins ($0,006 \pm 0,0009$). De même, cet index est de $0,007 \pm 0,0007$ pour les rats traités par le thiabendazole plus thé vert contre $0,007 \pm 0,0011$ pour ceux traités par le thé vert . Ces résultats ne montrent aucune variation significative pour ce paramètre ($P > 0,05$).

Nos résultats rejoignent ceux rapportés par **Lankas** en (1995) qui a étudié l'effet d'une administration par voie *per os* du thiabendazole à raison de 92 mg/kg/j à des rats *Sprague Dawley*. Ces auteurs, ont noté une augmentation non significative du poids relatif du rein chez les rats recevant du thiabendazole par rapport aux rats témoins. Ces résultats sont également semblables à ceux obtenus par **Wang et al.** en (2013) qui se sont intéressés à l'étude de l'effet de l'administration du cadmium (8mg/Kg) et des doses croissantes de sélénium (0,05 ; 0,1 ; 2g/kg) sur le poids relatif des reins de souris. Ces auteurs, ont remarqué une atrophie rénale après administration du cadmium et une amélioration de pois relatif suite à l'administration du sélénium par inhibition de la toxicité de cadmium.

IV. Le taux du NO hépatique et rénal

En fin d'expérimentation, nous avons déterminé les taux du NO hépatique et rénal afin d'évaluer le statut redox. Les résultats de l'effet de l'administration du thiabendazole et du thé vert sur le taux du NO rénal ont révélé une augmentation hautement significative du taux du NO rénal chez les rats traités au thiabendazole en comparaison aux rats témoins. Ce taux a significativement augmenté chez les rats recevant du thiabendazole plus thé vert par rapport aux rats témoins-thé, il a significativement diminué comparés à ceux traités par le thiabendazole.

S'agissant du NO hépatique, nos résultats ont révélé augmentation hautement significative ($P < 0,0001$) de ce taux chez les rats recevant du thiabendazole par rapport aux rats témoins. Par contre, ce taux a significativement diminué ($P < 0,01$) chez les rats traités par le thiabendazole plus thé vert comparés aux rats témoins thé .

Nos résultats sont en accord avec les résultats obtenus par **Celik et al.** en (2008) qui ont étudié l'effet du méthyle parathion (oxydant) (20 mg/Kg) sur les paramètres plasmatiques et enzymatiques notamment le NO .

Bujanda et al.(2006) ont obtenus des résultats semblables à nos résultats lors de l'administration par voie per os de l'alcool et le resveratrol (anti oxydant) à une dose de 10 mg/kg chez les rats wistar pendant 4 semaines. Ils ont montré que l'alcool augmente le taux du NO chez les rats traités par l'alcool par rapport aux témoins tandis, il diminue chez les rats traités par l'alcool et le resveratrol.

V. La catalase hépatique et rénale

L'administration du thiabendazole a engendré une inhibition de l'activité enzymatique de la catalase rénale et hépatique, ceci peut être expliquer par la production excessive et l'accumulation des espèces réactives de l'oxygène induit par cette molécule toxique .

Ce résultat est similaire à celui obtenu par **Soussi et al** (2006) qui ont montré que l'administration de métavanate d'ammonium (5mg/Kg) pendant 10 jours entraînait une diminution de l'activité enzymatique de la catalase rénale chez le rat *Wistar*. Par contre , **Nciri et al** (2008) ont observé une augmentation significative de cette activité chez les souris traitées à des doses croissantes de carbonate de lithium (20, 40, 80mg/Kg) pendant 28 jours .

Nos résultats ont montré aussi que le co-traitement par le thiabendazole et le thé vert a induit une augmentation significative de l'activité enzymatique rénale et hépatique de la catalase, cela s'explique par l'activité anti-oxydantes des composés phénoliquesa présents dans le thé vert permettant de piéger les radicaux libres.

Ce résultat est similaire à celui obtenu par **Achaibou et Aloune** en (2013) et **Chouh et Ouared** en (2013), lors l'étude de l'effet de la nicotine et/ou du thé vert sur le rein et le foie du rat blanc *Rattus norvegicus* , ces auteurs ont signalé que l'administration *per os* du thé vert induit une augmentation significative de l'activité catalase hépatique et rénale chez les rats traités uniquement par le thé par rapport aux rats témoins, ces deux activités augmentent significativement chez les rats traités par la nicotine-thé vert comparés aux rats traités nicotine .

L'étude structurale du foie et du rein des rats blancs *Rattus norvegicus* traités au thiabendazole, comparés aux témoins, montre des grands espaces œdémateux ainsi qu'une accumulation de collagène en position péri-vasculaire, la formation de nouveau vaisseaux sanguins avec la présence d'un très grand nombre de cellules inflammatoires, une grande

Discussions

désorganisation des cellules hépatiques et rénales dont certaines présentent des noyaux préapoptotiques. Cependant, on observe une grande amélioration chez les rats recevant du thiabendazole et du thé vert comparés aux rats recevant du thiabendazole. Elle se manifeste par une meilleure organisation structurale des lobules hépatique et du parenchyme rénal aussi bien au niveau des le lobule hépatique que la partie corticale et médullaire du rein , le nombre des vaisseaux néoformés est moindre et la plupart des hépatocytes retrouvent leurs forme polyédrique initiale, le nombre d'hépatocytes et de cellules rénales présentant des noyaux préapoptotiques est faible par rapport aux rats recevant du thiabendazole .

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus respectivement par **Hammadi** et **Touharia (2011)** et **Achaibou** et **Alouane** qui ont étudié l'effet de l'administration pendant deux mois de la nicotine et/ou le thé vert (2%) sur le foie et le du rat blanc *Rattus norvegicus*, ces auteurs ont signalé les mêmes altérations structurelles après injection de la nicotine et une nette amélioration structurale après co-traitement par thé vert .

Conclusion et Perspectives

Ce travail, nous a permis de mettre en évidence l'effet de l'administration par voie orale du thiabendazole (500mg/kg de p.c) et le thé vert (antioxydant) durant un mois sur le foie et le rein des rats blancs *Rattus norvegicus* au sein de l'animalerie de l'Université M'Hamed Bougara de Boumerdes.

En fin d'expérimentation les résultats obtenus ont montré que l'administration du thiabendazole (500 mg/kg de p.c) pendant un mois a provoqué des changements non significatifs du poids des animaux et une augmentation significative du taux de NO hépatique et rénal par rapport aux rats témoins et témoins thé. Le cotraitement par le thiabendazole et le thé induit une baisse significative du taux de NO par rapport aux rats traités par le thiabendazole. Le même résultat est obtenu pour l'activité catalase aussi bien hépatique que rénal, ces résultats montrent bien l'effet anti-oxydant de notre extrait de thé largement signalée en bibliographie. L'étude structurale du foie et du rein des rats recevant du thiabendazole montre une désorganisation structurale révélée par l'apparition des oedèmes suite à la disparition des cellules hépatiques et rénales, certaines cellules en voie de disparition présente une chromatine dense et des noyaux préapoptotiques, cette perte cellulaire est peut être due à l'infiltration des cellules inflammatoires sanguine dans le tissu hépatique et rénale et/ou l'hypoxie cellulaire reflétée par l'importante vascularisation des deux tissus accompagné d'une fibrose péri vasculaire.

Le traitement par le thé vert montre une amélioration au niveau des structures hépatique et rénale qui apparaissent mieux organisées avec moins d'œdème, de fibrose et de foyer inflammatoires .

Au terme de ce travail, nous avons essayé d'élucider l'un des mécanismes à l'origine de la toxicité du thiabendazole qui est le stress oxydant révélé par l'augmentation du marqueur du stress oxydant et de l'inflammation NO et une baisse de l'activité catalase tissulaire. L'atténuation du déséquilibre redox par l'extrait du thé est révélé par l'augmentation de l'activité catalase tissulaire, une baisse du taux de NO tissulaire et une amélioration structurale hépatique et rénale.

Ce travail mérite d'être complété par d'autres travaux qui vont permettre de mieux cerner le pouvoir oxydatif du thiabendazole et anti-oxydant de l'extrait du thé vert par le dosage d'autres enzymes anti-oxydante, superoxyde dismutase et la glutathion peroxydase.

Il serait intéressant également d'analyser les protéines proapoptotique à l'origine de la perte cellulaire par *western Blot*.

Références Bibliographiques

- Achaibou , Aloune , Chouh , Ouared.** (2013) l'effet de la nicotine et du thé vert sur le rein du rat blanc : etude structurale, dosage de l'urée et créatinine plasmatique et dosage du MDA et catalase rénale. Mémoire de Master université UMBB.
- Allison R.W., Lassen ED., Burkhard M. J., Lappin M. R.** (2000). Effect of bioflavonoid dietary supplement on acetaminophen-induced oxidative injury to feline erythrocytes. *J. Am, V, Med, Assoc.* **217**: 1157-1161.
- Anon,** (1997). The Pesticide Manual, Eighth edition, British Crop Protection Council (Ed. Worthing, C. R).
- Azam S., Hadi N., Khan N. U., Hadi S. M.** (2004). Prooxidant property of green tea polyphenols epicatechin and epigallocatechin-3-gallate: implications for anticancer properties. *Toxicology in Vitro.* **18**: 555–561.
- Banerjee B., Chaudhuri T. C.** (2005). Therapeutic effects of tea. *Science Publisher.* 23-28.
- Bion E., Pariente E. A. Maitre F.** (1995). Severe cholestasis and sicca syndrome after thiabendazole. *J. Hepatol.* **23**: 762–763.
- Bonnefoy E., Lefevre G., Garbrz E., Devaux J. Y., Bugugnani M. J., Marie P. V., Ingrand J., Balin A. K., Allen R. G.** (2004). Oxidative Stress and Aging *Encyclopedia of Endocrine Diseases.* **32**: 470-474.
- Borg J., Reeber A.** (2004). Biochimie métabolique :117-134.
- Burke A., Fitzgerald G. A.** (2003). Oxidative Stress and Smoking-induced Vascular Injury. *Progress in Cardiovascular Diseases.* **46**(1): 79-90.
- Cabrira C., Artacho R., Gimenez R.** (2006). Beneficial effects of green tea : A review. *Journal of American college of nutrition.* **25**: 79-99.
- Coulet M., Eeckhoutte C., Larrieu G, Sutra J. F., Alvinerie M., Mace K., Pfeifer A. M., Zucco F., Stamatii A. L., De Angelis L.** (2000). «Evidence for cytochrome P4501A2 mediated protein covalent binding of thiabendazole and for its passive intestinal transport: use of human and rabbit derived cells». *Chem. Biol. Interact.,* **127**: 109-124.
- Craine E. M.** (1990). A metabolism study in rats with ¹⁴C-thiabendazole. **242**: 570-847.
- Curtay et Robin J. M.** (2000). Intérêt des complexes antioxydants. Centre d'étude et de développement de la nutrithérapie.
- Dalvie D., Smith E., Deese A., Bowlin S.** (2006). «In vitro metabolic activation of

Références Bibliographiques

thiabendazole via 5- hydroxythiabendazole: identification of a glutathione conjugate of 5hydroxythiabendazole». **34**: 709-717.

Dana G., Benichou C. (1993). Causality assessment of adverse reactions to drugs_I.A novel method based on the conclusions of international consensus meetings : application to drug_induced liver injuries. *J. Clin. Epidemiol.*, **46**(13): 23-30.

Delattre Beaudoux J. L. and Bonnefont Roisselot. (2005). Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier edition TEC & DOC editions medicales internationales Paris. 1-405.

Dubey A. K., Sanyal., P. K. (2010). Benzimidazoles in a Wormy World. *Online Vet. J.* **5**: 63-67.

Eddouks M., Ouahidi M. L., Farid O., Moufid A., Khalidi A., Lemhardi A. (2007). l'utilisation des plantes medicinales dans le traitement du diabète au maroc. *Phytotherapie*, **5**: 264-270.

Elbling L., Weiss R. M., Teufelhofer O., U. M., Knasmueller S., Hermann R. S., Berger W., Micksche. (2005). Green tea extract and (-)-epigallocatechin-3-gallate, the major tea catechin, exert oxidant but lack antioxidant activities. **10** :1096-2915.

European Medicines Agency (EMA). (2004), Veterinary Medicines and Inspections. Committee for medicinal products for veterinary use. Thiabendazole (extrapolation to goats). Summary report **3**: 086803.

Evans W. J. (2000) .Vitamin E, vitamin C and exercise. *Am. J. Clin. Nutr.* **72** :647-652.

Favier A. (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité Chimique*. **5**: 108-115.

Food and Drug Administration (FDA). (2003). Chewable tablets and suspension. Mintezol (Thiabendazole).

Fontaine F., Barnoud D., Schwebel C., Leverve X. (2002). Place des antioxydants dans la nutrition du patient septique. *Pathol. biol.* **11**: 411-20.

Fujitani T., Yoneyama M., Ogata A., Ueta T., Mori K., Ichikawa H. (1991). New metabolites of thiabendazole and the metabolism of thiabendazole by mouse embryo *in vivo* and *in vitro*. *Food. Chem. Toxicol.* **29**: 265–274.

Références Bibliographiques

Garait B., Couturier K., Servais S., Letexier D., Perrin D., Batandier C., Rouanet J L., Sibille B., Rey B., Leverve X., Favier R. (2005). Fat intake reverses the beneficial effects of low caloric intake on skeletal muscle mitochondrial H₂O₂ production ; *Free Radical Biology and Medicine*. **39**: 1249-1261.

Giammarioli S., Filesi C., Vitale B., Cantagallo A., Dragoni F., Sanzini E. (2004). Effects of high intakes of fruit and vegetables on redox status in type 2 onset diabetes : a pilot study. *Int. J. Vitam. Nut.r Res.* **74 (5)**: 313-20.

Gosselin R. E., Smith R. P., Hodge H. C. (1984). Toxicologie clinique des produits commerciaux, Williams and Wilkins, Baltimore, M.D.

Groh M., Blanche P., Calmus Y., Guillevin L. (2012). insuffisance hépatique aiguë induite par le thiabendazole nécessitant une transplantation et le diagnostic ultérieur de la polyartérite noueuse. *Clin. Exp. Rheumatol.* **30**: 7-9.

Groten J., Butler P., Feron W., Koziowski V. J, Renwick G., Walker R. A. (2000). An analysis of the possibility for health implications of joint actions and interactions between food additives. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **31**: 77-91.

Guan J., Wan X. S., Zhou Z. (2004). Effects of dietary supplements on space radiation-induced oxidative stress in Sprague-Dawley rats. *Radiat . Res.* **162(5)**: 572-921.

Gutteridge J. M. (1993). Free radicals in disease processes: a complication of cause and consequence. *Free Radic. Res. Commun*, **19**: 141-158.

Hajimahmoodi M., Hanifeh M., Oveisi M. R., Sadeghi N., Jannat B. (2008). determination of total antioxidant capacity of green teas by the ferric reducing/antioxidant power assay. Drug and Food Control Department, Faculty of Pharmacy, Medical Sciences/University of Tehran. **5(3)**: 167-172.

Halliwel B. (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews*, **52**: 253-265.

hammad A. et Touahria A. effet de la nicotine et thé vert sur le foie et la thyroïde du rat blanc *rattus norvegicus* ; étude structurale et dosage du MDA (2011). Mémoire de Master université UMBB.

Hare J. (2004) Nitroso-redox balance in the cardiovascular system. *N Engl J Med*, **351**: 2112-2114.

Références Bibliographiques

Harkness J. E. and Wagner J. E. (1994). The biology and medicine of Rabbits and Rodents, 4 Edition, *Philadelphie. Lea and Febiger*. **96**: 130-136.

Harpkiewick K., Medina L., Holmes D. D. (1998). Clinical medicine of small mammals and primates, *2nd Edition ; Chap 2*. Rats : 31-39.

Heat R. L. and Packer L. (1968). Photoperoxydation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichimetry of fatty acid peroxydation. *Arch. Biochem. Biophys.* **125**: 189-198.

Horne E., Coyle T., O’Keeffe, Alvinerie M., Galtier M., Brandon D.L. (2003). Release of protein-bound residues of thiabendazole from liver. *J. Agric. Food. Chem.* **51**: 5552-5555.

Institut for Pharmakologie Toxikologie and Pharmazie der Tierarztlichen Hochschule Hannover, (1985). Report on prenatal toxicity studies in rats with thiabendazole. **21**: 242-046.

Katiyar S. K., Elmets C. A., Agrawal R., Mukhtar H. (1996). Protection against ultraviolet-B radiation-induced local and systemic suppression of contact hypersensitivity and edema responses in C3H/HeN mice by green tea polyphenols. *Photochem Photobiol.* **62**: 855-61.

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

Keon W., Soo Jin., Shi Y., Gyu Y., Bong-Hee K., Jong S., Sang K. (2010). Evaluation of the totalox-radical scavenging capacity of catechins isolated from green tea. *Food Chimistry* : **20**: 125-130.

Kim SNH., Lee K. M., Chae H. B., Park S. M., Youn S. J. (2006). Clinical experience of 48 acute toxic hepatitis patients. *Korean j. hepatol.* **12**(1): 74-81.

Koppenol W. H. (2001). 100 years of peroxydinitrite chemistry and 11 years of peroxydinitrite biochemistry. *Redox Rep.* **6**(6): 339-416.

Lacolley P., Babuty D., Boulanger, C. Ghaleh, B. Loirand, G. Pinet F., & Samuel, J. L. (2007). Biologie et pathologie du coeur et des vaisseaux. Edition *John Libbey Eurotext* . **312**: 316-317.

Lankas G. R. and Wise L. D. (1992). Thiabendazole two-generation dietary study in rats. Merck Sharp & Dohme Research Laboratories Project **90**: 733-740.

Lankas G. R. (1995). Fourteen-week dietary thyroxine clearance study in rats with a 14-week recovery period. Merck Research Laboratories Project **94**: 024-0.

Références Bibliographiques

- Leggio L., Addolorato G.** (2009). "Do you want a vodka? No, a green tea please!" Epigallocatechin gallate and its possible role in oxidative stress and liver damage, *Nutrition*. **25**: 1-2.
- Leverse X., Cosnes J., Erny P., Hasselmann M.** (2001). *Traité de nutrition artificielle de l'adulte*. 2ème édition. Edition *Springer*. 241.
- MacKay D. L., Blumberg J. B.** (2002). The role of tea in human health : An update. *J. Am. Coll. Nutr.* **21**: 1-13.
- Manivel J. C., Bloomer J. R., Snover D. C.** (1987). Progressive bile duct injury after thiabendazole administration. *Gastroenterology*. **93**: 245–249.
- Mehler L.** (2000). Summary of illnesses and injuries reported by California physicians as potentially related to pesticides. Department of Pesticide Regulation, Worker Health and Safety Branch, Sacramento, C. A.
- Mizutani T., Yoshida K., Kawazoe S.** (1994). «Formation of toxic metabolites from thiabendazole and other thiazoles in mice. Identification of thioamides as ring cleavage products». *Drug. Metab. Dispo.* **22**: 750-755.
- Mizutani T., I. K., Nomura H., Nakanishi K.** (1990). Nephrotoxicity of thiabendazole in mice depleted of glutathione by treatment with DL-buthionine sulphoximine. *Food Chem. Toxicol.* **28**: 169-177.
- Mohiuddin R., Lewis J. H.** (2004). Drug and chemical-induced cholestasis. *Clin. Liver Dis.*, **8**: 95-132.
- Mukhar H., Ahmed N.** (2000). Tea polyphenols: prevention of cancer and optimizing health. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **71**: 1698-1702.
- Nakagawa Y., Moore G. Y.** (1995). Cytotoxic effects of postharvest fungicides , orthophenylphenol, thiabendazole and imazalil on isolated rat hepatocytes. *LIFE SCIENCES* **57**(15):1433-1440.
- Nciri R., Allagui M S., Croute F., Vincent C. H., Elfeki A.** (2008). Effets chroniques de faibles doses de carbonate de lithium chez la souris. Relations entre statut oxydant et modification fonctionnelles et structurales des reins et du cerveau. *C.R Biologies*. **331**: 23-31.
- O'Brien P. J. and Siraki A. G.** (2005). Accelerated cytotoxicity mechanism screening using drug metabolising enzyme modulators. *Curr. Drug. Metab.* **6**: 101-109.

Références Bibliographiques

- Packer L., Tritschler H. J., Wessel k.** (1997). Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Free Radical. Biologie Medical.* **22**: 359-378.
- Panza V. S., Wazlawik F., Ricardochutz C., Gomin I., Heckt K. C.** (2008). Consumption of green tea favorably affects oxidative stress markers in weight trained men. *Nutrition.* **24(5)**: 433-442.
- Roosen R. E., Giesel L.** (1950). Quantitative studies on spermatogenesis in the albino rat. *j. anat.*, **87**: 1-30
- Roy M. A., Nugent F. W., Aretz H. T.** (1989). Micronodular cirrhosis after thiabendazole. *Dig. Dis. Sci.* **12**: 938-941.
- Sabharwal D. V., Tikare S. K., Saxena S. N., Gupta P. S., Chuttani H. K.** (1966). Thiabendazole in hookworm infection. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* **60**: 490-492.
- Sina J. F.** (1992). Thiabendazole microbial mutagenesis assay. Merck Report No. TT91-0839 and TT91-0842. DPR. **242**: 621-655.
- Sohal R. S., Mockett R. J. W. C.** (2002) Mechanisme of again:an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free. Biol. Med.* **33(5)**: 75-86
- Soussi A., Croute F., Soleilhavoup J. P., Kammoun A., E. I. Feki A.** (2006). Impact du thé vert sur l'effet oxydatif du métavanadate d'ammonium chez le rat male pubère. *C.R.Biologies.* **329**: 775-784.
- Stierum R., Conesa A., Heijne W., Ommen Bv., Junker K., Scott M. P., Price R. J., Meredith C., Lake B. G., Groten J.** (2008). Transcriptome analysis provides new insights into liver changes induced in the rat upon dietary administration of the food additives butylated hydroxytoluene, curcumin, propyl gallate and thiabendazole. *Food Chem. Toxicol.*, **46**: 2616-2628.
- Sugihara N., Shimomichi K., Furuno K.** (1997). Cytotoxicity of food preservatives in cultured rat hepatocytes loaded with linolenic acid. *Toxicology.* **120**: 29-36.
- Sturtz L. A., Cizewski C. V.** (2002). Superoxide dismutase null mutants of baker's yeast. *Saccharomyces cerevisiae ; Methods in Enzymology.* **349**: 167-172.
- Tada Y., Yoneyama M., Kabashima., Fujitana T., Nakano M.** (1989) Effets du thiabendazole sur les reins des souris ICR. *Nourriture Chem. Toxicol.* **27**: 307-315.

Références Bibliographiques

Tocco D. J., Rosenblum C., Martin C. M., Robinson H. J. (1966a). Absorption, métabolisme et excrétion du thiabendazole chez l'homme et les animaux de laboratoire. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **9**: 31-39.

Tremellen K. (2008). Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. *Hum. Reprod.* **14**: 243-258.

Twal M., Kiefer Ph., Salameh A., Schnabel J., Ossmann S., Salisch S. V., Kramer K., Sobiraj A., Kostelka M., Mohr F. W., Dhein S. (2013). Reno-protective effects of epigallocatechingallate in a small piglet model of extracorporeal circulation. *Pharmacological Research.* **67**: 68– 78.

United States Environmental Protection Agency (USEPA). (2002). Thiabendazole and salts.

Wachira F. N., Tanaka J., Takeda Y. (2001). Genetic variation and differentiation in tea germplasm revealed by RAPD and AFLP variation. *J. Hort. Sci. Biotechnol.*

Wang Y., Wu Y., Luo K., Liu Y., Zhou M., Yan S., Shi H., Cai Y. (2013). The protective effects of selenium on cadmium-induced oxidative stress and apoptosis via mitochondria pathway in mice kidney. *Food and Chemical Toxicology.* **58**: 61–67.

Wolfe G. and Squibb. (1994). Thiabendazole: 106-week dietary toxicity/carcinogenicity study in rats. Hazleton Washington Inc. HWA Project No. 284-172. Merck Report No. TT90-9009. **242**: 587-740.

World Health organization (WHO). 2008. International Programme on Chemical Safety. Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Food Additive Series 39. Thiabendazole.

Yzydorkzyk C. (2011). Rôle du stress oxydant en période néonatale dans l'hypertension artérielle et la dysfonction vasculaire et métabolique de l'adulte. Thèse de Doctorat. Cotutelle Montréal-Auvergne. 324p

Zeiger E., Anderson B., Haworth S., Lawlor T., Mortelmans K. (1988). Salmonella mutagenicity tests: IV. Results from the testing of 300 chemicals. *Environ. Mol. Mutagen.* **11**: 1-157.

Zielhuis R. L. and Vander Kreek F. W. (1979). The use of a safety factor in setting health based permissible levels for occupational exposure. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* **42**: 191- 201.

Fiche technique N°1

Le thé vert est préparé à petit feu dans 1000 ml d'eau.

-Le thé vert 20 g.

-Eau..... 1000 ml.

Fiche technique N°2

NaCl 0,9% :

-NaCl..... 4,5 g.

-Eau distillée..... 500 ml.

Fiche technique n°3

Préparation de l'aliment à administrer :

- Poudre d'aliment broyé.....400g.

- Thiabendazole.....2,2g

Le tout mélangé avec de l'eau pour en fait l'aliment sous forme des boudins.

Fiche technique N°4

Solution tampon ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$) 100 ml

Triton x 100 1%

BHT 0,01% 10 ul

Fiche technique N°5

Eau gélatinée 0.4%

-Gélatine en poudre.....0,4 g.

-Eau distillée..... 100 ml.

La solution est homogénéisée sous agitation sur une platine chauffante. 10ul

Fiche Technique N° 6

Coloration au hématoxyline –Eosine

1. Hématoxyline de Groat : Préparation à froid.

• Solution A

Acide sulfurique concentré..... 1,6 ml

Alun de fer2g.

Eau distillée 100 ml.

• **Slution B**

ématoxyline..... 1 g.

Alcool 95°..... 100 ml.

2. Eosine

Mode opératoire

-Déparaffinage par le xylène pendant 30 minutes

- Hydratation par l'alcool :

Alcool 100° pendant 5minutes

Alcool 90° pendant 5 minutes

Alcool 70° pendant 5 minutes

-Coloration par l'hématoxyline de Groat pendant 2 minutes

- Rinçage à l'eau courant pendant 5 minutes

- Coloration par éosine pendant 30 secondes

- Rinçage rapide

- Déshydratation par l'alcool :

Alcool 70° pendant 3 minutes

Alcool 90° pendant 3 minutes

Alcool 100° pendant 3 minutes

Fiche Technique N° 7

Coloration au trichrome de Masson

1. Hématoxyline de Groat : Préparation à froid.

• **Solution A**

Acide sulfurique concentré..... 1,6 ml

Alun de fer.....2g.

Eau distillée.....100 ml.

• **Solution B**

Hématoxyline..... 1 g.

Alcool 95°..... 100 ml.

2. Fuchsine ponceau : Préparation à froid.

Fuch sine acide.....	0,1 g.
Ponceau.....	0,2 g.
Eau distillé.....	300 ml.

Après dissolution on ajoute 0,6 ml l'acide acétique.

3. Acide phosphotungstique : Préparation à froid.

Acide phosphomolybdique.....	5g.
Eau distillée.....	100 ml.

4. Vert Brillant : Préparation à froid.

Vert Brillant	0,1g.
Eau distillée.....	100 ml.
Acide acétique.....	2 ml.

Mode opératoire

- Déparaffinage par le xylène pendant 30 minutes

- Hydratation par l'alcool :

Alcool 100° pendant 5 minutes

Alcool 90° pendant 5 minutes

Alcool 70° pendant 5 minutes

- Coloration par l'hématoxyline de Groat pendant 2 minutes

- Rinçage à l'eau courante pendant 5 minutes

- Coloration par fuschine ponceau pendant 35 secondes

- Rinçage rapide

- Immerger les lames dans l'acide phosphotungstique pendant 20 minutes

- Coloration par le vert lumière ou le bleu d aniline

- Déshydratation par l'alcool :

Alcool 70° pendant 3 minutes

Alcool 90° pendant 3 minutes

Alcool 100° pendant 3 minutes

Tableau II : liste du matériel non biologique utilisé dans expérimentation

Matériel utilisé	Appareillage utilisé
- Matériel de dissection.	-Balance de précision.
- Micropipettes.	-Centrifugeuse.
- Tubes à essais.	-Etuve.
- Tubes EDTA	-Plaque chauffante.
- Tubes secs	-Microscope.
- Tubes capillaires	- Bain Marie
- Microtome.	- Spectrophotomètre
- Entonnoirs.	-Vortex
- Lames et lamelles.	
- Embouts (verts et jaunes).	
- Eppendorff.	
- Bêchers.	
- Cassettes.	

Tableau III: Résumé des différentes étapes de l'étude histologique

Etapes	Produits	Nombre de baigns	Temps	température
Fixation	formol	1 bain	2 jours	ambiante
Lavage	Eau courante pendant 3 heures			ambiante
Déshydratation	Alcool éthylique à degré croissant :			
	50°	3 baigns	30 min	ambiante
	70°	3 baigns	30 min	
	90°	3 baigns	30 min	
	100°	3 baigns	30 min	
Eclaircissement	Butanol	3 baigns	30 min	ambiante
Inclusion dans la paraffine	Butanol-paraffine	1 bain	2 heures	Etuve : 60° C
	paraffine	2 baigns	2 heures	
Confection des blocs	paraffine	Cassettes		ambiante
Coupage et étalement	-Solution gélatiné 0,4% -Lames de verre propres et séchées			ambiante
Déparaffinage	Dans l'étuve pendant 24 heures			20° C
Réhydratation	Toluène	1 bain	quelques secondes	
	Alcool 100°	1 bain		
	Alcool 90°	1 bain		
	Alcool 70°	1 bain		
	Alcool 50°	1 bain		
	Eau distillé	1 bain		
Coloration topographique des coupes	La moitié des lames est colorés par l Trichrome de Masson et l'autre moitié colorés par L'Héματοxyline éosine (HE)			Ambiante
Déshydratation	Alcool 50°	1 bain	quelques secondes	Ambiante
	Alcool 70°	1 bain		
	Alcool 90°	1 bain		
	Alcool 100°	1 bain		
	Xylène	1 bain		
Montage des coupes entre lame et lamelle avec l'eukitt et observation .				

Résumé :

Le thiabendazole, agent antihelminthique et antifongique est un médicament à haut risque d'hépatotoxicité et de néphrotoxicité. L'effet toxique du thiabendazole est due à l'altération de l'équilibre redox cellulaire . Le thé vert est une boisson riche en polyphénols, antioxydants atténuant les effets cytotoxiques du thiabendazole.

Notre travail est porté sur l'effet de l'administration du thiabendazole et du thé vert pendant un mois sur le foie et le rein du rat blanc *Rattus norvegicus*, l'activité catalase et taux de NO hépatique et rénal.

Nos résultats montrent que l'administration du thiabendazole a engendré un changement non significatif du poids corporels des animaux, une diminution significative de l'activité de la catalase rénale et hépatique et une augmentation significative du taux de NO hépatique et rénal ainsi qu'une désorganisation des structures tissulaires hépatiques et rénales par rapport aux témoins. Ces effets, sont améliorés par l'administration du thé vert.

Mots clés :

Thiabendazole, stress oxydant, thé vert, *Rattus norvegicus*, foie, rein.

Abstract :

Thiabendazole, an antihelminthic and antifungal agent, is a drug with a high risk of hepatotoxicity and nephrotoxicity. The toxic effect of thiabendazole is due to the alteration of the cellular redox equilibrium. Green tea is a drink rich in polyphenols, antioxidants attenuating the cytotoxic effects of thiabendazole.

Our work focuses on the effect of administration of thiabendazole and green tea for one month on the liver and kidney of the white rat *Rattus norvegicus*, catalase activity, and hepatic and renal NO.

Our results show that administration of thiabendazole resulted in a non-significant change in animal body weight, a significant decrease in renal and hepatic catalase activity, and a significant increase in hepatic and renal NO and disorganization of hepatic and renal tissue structures compared with controls. These effects are improved by the administration of green tea.

Keywords :

Thiabendazole, oxidative stress, green tea, *Rattus norvegicus*, liver, kidney.

الملخص باللغة العربية

Thiabendazole ، وهو عامل مضاد للفطريات ومضاد للديدان المعوية ، هو دواء ذو مخاطر عالية من السمية الكبدية والسمية الكلوية. يرجع التأثير السام للثيابندازول إلى تغير توازن الأكسدة الخلوية. الشاي الأخضر هو مشروب غني بالبولىفينول ومضادات الأكسدة التي تخفف من التأثيرات السامة للخلايا للثيابندازول.

يركز عملنا على تأثير إعطاء ثيابندازول والشاي الأخضر لمدة شهر واحد على الكبد والكلى من الفئران البيضاء *Rattus norvegicus* ، نشاط الكاتلاز ، و NO الكلوي والكبدية.

أظهرت نتائجنا أن إعطاء **Thiabendazole** نتج عنه تغير غير معنوي في وزن الجسم الحيواني ، انخفاض ملحوظ في نشاط الكاتلاز الكلوي والكبدية ، وزيادة معنوية في NO و الكبد الكلوي وقع الاختلال في هياكل النسيج الكبدية والكلية مقارنة مع الضوابط. يتم تحسين هذه الآثار من خلال إدارة الشاي الأخضر.

كلمات البحث:

Thiabendazole ، الإجهاد التأكسدي ، الشاي الأخضر ، *Rattus norvegicus* و الكبد والكلية.

INTRODUCTION

Rappels bibliographiques

Matériel et Méthodes

Résultats

Discussion

Conclusion

Annexes

Références bibliographiques