



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE BADJI MOKHTAR-ANNABA
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
LABORATOIRE DE BIOSURVEILLANCE ENVIRONNEMENTALE

THESE PRESENTEE EN VUE DE L'OBTENTION
DE DIPLOME DE DOCTORAT
DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES
OPTION : SANTE ENVIRONNEMENTALE

Étude des effets de l'exposition aux vapeurs d'essence sur les
fonctions métaboliques endocriniennes et de détoxification chez le
rat Wistar.

Présenté par : Mme. CHEKKAL Raghda

Directeur de thèse : Dr. Ouali Trea Fouzia

Devant un jury composé de :

Pr.HABBACHI Wafa	Présidente	Université Badji Mokhtar - Annaba
Pr.KHALDI Fadila	Examinatrice	Université Cherif Messaïdia- Souk ahrass
Pr.AMRANI Leila	Examinatrice	Université Badji Mokhtar - Annaba
Dr.BABA AHMED Fedia	Examinatrice	Université Chadli Bendjedid – El Taref

ANNEE UNIVERSITAIRE 2025 / 2026

Sommaire

Remerciement

Dédicaces

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction :	1
Partie bibliographique	3
CHAPITRE I : LA POLLUTION ATMOSPHERIQUE.....	3
1. Généralité sur la pollution atmosphérique :	3
2. Les Polluants Organiques Persistants	4
2.1 Propriétés physico chimiques :	4
2.2 Source et situation d'émission :	4
3. Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques.....	5
3.1 Caractéristiques physicochimiques des composés	5
3.2 sources d'émission	5
3.3 Mécanismes d'entrée des contaminants dans l'organisme	6
3.4 Evaluation du métabolisme	7
4. Toxicologie.....	7
CHAPITRE II : GENERALITE SUR LE STRESS OXYDATIF	9
1. Généralité	9
2. Les radicaux libres formés au sein des systèmes biologiques	9
3. Les espèces radicalaires générées dans les systèmes biologiques	10
4. Les altérations induites par le stress oxydatif au niveau des macromolécules biologiques	10
4.1. Processus d'oxydation des lipides	11
4.2. Altération oxydative des protéines	11
4.3. Les altérations oxydatives de l'ADN	12
5. Implication du stress oxydatif dans les mécanismes physiopathologiques associés à diverses maladies.....	12
6. Mécanismes antioxydants de protection de l'organisme.....	14
6.1. Les mécanismes enzymatiques de défense anti oxydative	15
6.1.1 Les enzymes superoxyde dismutases	15
6.1.2. Les glutathion peroxydases (GPx).....	15
6.1.3. Définition des glutathion S-transférases (GSTs).....	16
6.1.4. Définition la catalase	16
6.2 Les mécanismes antioxydants non enzymatiques	16
6.2.1. Le glutathion GSH.....	16

6.2.2. définition de L'acide alpha-lipoïque.....	17
6.2.3. La mélatonine	17
6.2.4. L'acide urique.....	17
6.2.5. Le Coenzyme Q 10.....	18
6.2.6. L'acide ascorbique.....	18
6.2.7. La vitamine E	18
6.2.8. Les oligo-éléments.....	19
6.2.9. Les polyphénols.....	19
CHAPITRE 3 : Physiologie et rôle du système endocrinien.....	21
1. Généralités sur le système endocrinien	21
1.1 Définition.....	21
2. Anatomie et fonction des glandes endocrines	22
2.1 Généralités.....	22
2.2 Les glandes majeures du système endocrinien.....	22
2.2.1. Organisation fonctionnelle du complexe hypothalamo-hypophysaire	22
2.2.2. La glande thyroïde.....	27
2.2.3. Les glandes parathyroïdes	27
2.2.4 Les glandes surrénales.....	27
2.2.5. Le pancréas.....	28
2.2.6. Les ovaires.....	29
2.2.7. Les testicules	29
3. Les composés perturbateurs du système endocrinien.....	30
3.1 Historique et définition.....	30
3.2 Mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens	30
3.3 Répartition des perturbateurs endocriniens selon leur origine et leur nature	32
CHAPITRE 4 : LA MELATONINE	33
1. La Mélatonine.....	33
2. Synthèse de la Mélatonine.....	33
Métabolisme de la mélatonine.....	34
5. Mélatonine et stress oxydatif.....	36
PARTIE PRATIQUE	38
Chapitre 5 : Matériels et Méthodes	38
1. Les produits chimiques.....	38
2. Traitement des rats	38
2.1. Description du modèle animal et des conditions d'élevage	38
3. Dispositif expérimental	39
3.1 Répartition et prise en charge expérimentale des rats	39
3.2 Mode d'exposition des rats :	39

4. Procédure de sacrifice des animaux	41
4.1 Prélèvement d'échantillons sanguins	41
4.2 Prélèvement des organes	41
5. Détermination des paramètres biochimiques.....	41
6. Évaluation des paramètres hématologiques par la formule de numération sanguine (FNS)	41
7. Dosage hormonal thyroïdien	42
8. Analyse des marqueurs du stress oxydatif.....	42
8.1. Obtention des homogénats tissulaires	42
8.2 Détermination de la teneur en protéines	42
8.3 Dosage du glutathion (GSH)	43
8.4 Évaluation de la peroxydation lipidique par dosage du malondialdéhyde (MDA)	44
8.5. Évaluation de l'activité de la catalase (CAT).....	45
8.6. Détermination de l'activité du superoxyde dismutase (SOD).....	46
8.7. Evaluation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase	46
Principe :	46
9. l'analyse de l'essence	47
9.1 Analyse du mercure (Hg) : Spectrométrie d'absorption atomique sans flamme	48
9.2. Analyse du nickel (Ni), du cadmium (Cd), du plomb (Pb) et du chrome (Cr) : Spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-AES)	48
10. Étude histologique.....	49
11. Etude statistique	50
Chapitre 6 : Résultats	51
Caractérisation de l'essence en éléments traces métalliques.....	51
1 Effets de l'exposition aux vapeurs d'essence sur les paramètres physiologiques, biochimiques, hématologiques : Evaluation du potentiel protecteur de la mélatonine.....	51
1.1. Effet des vapeurs d'essence sur l'état physiologiques des rats	51
1.2. Analyse de profil pondéral général et des organes	52
1.2.1. Poids corporel.....	52
2.1.1. Poids absolus et relatif des organes : le foie, les poumons et la thyroïde	52
1.3. Impact du traitement sur les paramètres biochimiques, hématologiques et endocriniennes	53
1.3.1 Évaluation de la fonction hépatique à travers le dosage de la bilirubine totale et des transaminases :	53
1.3.2 Impacts de l'exposition aux vapeurs d'essence sur les paramètres tissulaire et cardiaque : CPK et LDH	55
1.3.3 impacts des vapeurs d'essence sur les paramètres hématologiques	56
1.3.4 Impact du traitement sur la fonction thyroïdienne :	57
2. Stress oxydant induit par les vapeurs d'essence : Effets protecteurs de la supplémentation en Mélatonine.....	58
2.1. Évaluation des paramètres non enzymatiques du stress oxydatif.....	58
2.1.1. Taux du glutathion réduit (GSH).....	58

2.1.2 Peroxydation lipidique (MDA).....	59
2.2 Effet des vapeurs d'essence sur les paramètres enzymatiques	60
2.2.1 Le superoxyde dismutase (SOD).....	60
2.2.2. La catalase (CAT).....	61
2.2.3. La glutathion peroxydase (GPx).....	62
2.2.4. Glutathion - S- transférase (GST).....	63
3. Étude histologique :.....	64
3.1 Étude histologique de la thyroïde	64
3.2 Etude histologique des poumons :.....	64
Chapitre 6 : Discussion.....	67
Conclusion :.....	77
Perspectives	78
Références bibliographiques	79

Remerciement :

*Je remercie **Dieu** le tout puissant pour m'avoir accordé la force la volonté et la patience pour mener à bien ce travail. Sans sa volonté, rien de tout cela n'aurait été possible.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à ma directrice de thèse **Madame Le Docteur. Ouali Trea Fouzia**, je souhaite exprimer ma reconnaissance la plus sincère, pour son encadrement tout au long de ce travail. Son expertise, sa rigueur scientifique, ainsi sa disponibilité et ses conseils avisés ont grandement contribué à l'aboutissement de cette recherche.*

Je la remercie également pour la confiance qu'elle m'a accordé et pour l'accompagnement méthodique et exigeant dont elle a fait preuve à chaque étape de ce projet.

*Je tiens à remercier tout particulièrement **Monsieur le Professeur Ouali Kheiredinne** , chef du laboratoire de Biosurveillance environnementale, pour son soutien constant et la confiance qu'il m'a témoignée tout au long de ce travail. En tant qu'un enseignant depuis mon Master, il a grandement contribué à ma formation scientifique et a l'évolution de mon parcours. Son encadrement, ses conseils éclairés et son exigence académique ont été pour moi une source d'enrichissement continu.*

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude de l'ensemble des membres du jury pour l'honneur qu'ils me font en acceptant d'évaluer ce travail de thèse.

Je remercie tout particulièrement :

***Professeur Habbachi Wafa**, je vous remercie, pour m'avoir fait l'honneur et le plaisir d'accepter de présider cette thèse, pour avoir relue avec attention mon travail.*

***Professeur Amrani Leila**, qui m'a fait le grand honneur d'accepter de juger ce travail, je vous exprime ici toute ma gratitude et mon profond respect.*

***Docteur BABA- Ahmed Fedia**, pour que vous avez porté a ce travail en acceptant de le juger. Je vous exprime ici toute ma gratitude et mon profond respect.*

***Professeur Khaldi Fadila**, d'avoir accepté de juger ce travail en tant qu'examinatrice. je vous exprime ici toute ma gratitude et mon profond respect.*

*Je remercie vivement tous les membres de l'équipe LBSE ; **Dr Laouati Imen , Dr Belhamra Rahma, Dr Louahem Soumia, Dr Bengrid Asma ,Dr Chaib Sakina et Dr Meddeb Rim .***

*Un remerciement spécial pour mes deux copines, **Dr Laib Basma (Université de Batna) et Dr Kharoubi Rim (Université d'Annaba)** , avec qui j'ai eu le plaisir de partager cette belle aventure scientifique .Merci pour votre présence , votre bienveillance et pour les moments de complicité que nous avons partagés ont été pour moi d'un grand réconfort tout au long de cette période .*

*Je remercie sincèrement **Docteur Habib Ayadi** (Université de Sfax Tunis) pour m'avoir offert l'opportunité d'effectuer un stage au sein de son laboratoire.je suis reconnaissante pour l'accueil qui il ma préserve ainsi pour les conseils et l'encadrement dont j'ai bénéficié .*

*Je remercie aussi ma copine **Dr Jerbi Bouthaina** (école supérieure des ingénieurs Sfax) qui m'a accompagné avec grande générosité tout au long de mon stage en Tunisie .*

*Je n'aurais pu mener ce travail sans le soutien de mon Epoux **Fares**. Il m'est particulièrement cher de le remercier pour sa patience, sa compréhension et surtout les sacrifices qu'il a consentis à mes côtés tout au long de cette thèse. Son soutien moral qui m'a tout le temps accompagné. Cette réussite et aussi la sienne, et je lui en suis profondément reconnaissante.*

*Je suis profondément reconnaissante envers ma tante **Zidoune Scherazed et ma Grand-mère** ;qui ont tenu une place essentielle dans ma vie. Elles m'ont élevées avec amour et patience, c'est a eu que je dois une grande partie de ce que je suis aujourd'hui. elles m'ont beaucoup appris, en particulier durant les années fondamentale de mon enfance et ma scolarité.*

*Mes plus vifs remerciements à mes parents pour leur soutien constant. Mes sœurs **Ibtissem et Hiba** ,mon frère **Mouenes** pour leur présence tout au long de mon parcours. Aussi ma tante **Nacira** et sa fille **Imen** .*

Je ne citerai pas, mais ils se reconnaîtront, tous mes amis et collègues, qui m'ont soutenu, même de loin. Je leur suis reconnaissant.

Dédicaces :

*À la mémoire de **ma grand-mère**,
Tu n'es plus là, mais ta présence m'accompagne encore.*

*À mon mari, **Fares**
Pour ton soutien constant, ta patience, et ton amour indéfectible dans les
moments les plus exigeants.
Merci d'avoir cru en moi, même quand je doutais.*

*À mes deux princesses, **Jasmine et Aryem**
Ma lumière et ma force.
Que ce travail soit un exemple de persévérance et un rappel que tout est
possible avec courage et détermination.*

Résumé :

L'exposition chronique aux vapeurs d'essence, riches en hydrocarbure aromatique volatils, constitue un risque majeur pour l'état de santé de l'être humain. Dans ce contexte, la mélatonine, une hormone sécrétée principalement par la glande pinéale et reconnue pour ses puissantes propriétés antioxydantes et anti inflammatoire.

Cette étude vise à évaluer l'effet protecteur de la mélatonine contre les dommages induits par les vapeurs d'essence. Les rats ont été divisés en quatre groupes : le lot témoin (pas de traitement), le lot MLT qui a reçu de la MLT par voie intrapéritonéale (10 mg/kg), le lot VE ; les rats ont été exposé aux vapeurs d'essence (une exposition journalière pendant 90jrs), et le lot (VE +MLT) traité avec les vapeurs d'essence et la mélatonine. L'inhalation des vapeurs d'essence provoque des effets délétères au niveau de l'organisme se traduisant par un ralentissement de la croissance corporelle et une perturbation au niveau des paramètres de l'héogramme caractérisée par une diminution du nombre des GB et des PLT avec une baisse du VGM et du taux d'Hb. De plus, l'exposition des rats aux vapeurs d'essence a entraîné une augmentation des concentrations plasmatiques de la LDH et celle de la CPK, indicatrice de lésions cellulaires, comparativement aux autres lots (témoins et traités). Dans cette étude, les données obtenues révèlent que l'exposition des rats aux vapeurs d'essence a induit des perturbations sévères au niveau des biomarqueurs hépatiques et ceux de toxicité révélée par une augmentation des marqueurs plasmatiques, taux des transaminases, Les concentrations plasmatiques LDH et CPK et la bilirubine (BLT). Un déséquilibre en faveur du stress oxydatif, accompagné d'une diminution du glutathion réduit GSH, de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase (SOD), de la catalase CAT, de la glutathion peroxydase (GPx), de la glutathion S-transférase (GST) associée à une augmentation du taux de MDA dans les organes étudiés (foie et poumons). De plus, l'exposition des rats aux vapeurs d'essence a induit une augmentation des concentrations plasmatiques de la LDH et celle de la CPK, indicatrice de lésions cellulaires, et des différentes perturbations au niveau des paramètres de la fonction thyroïdienne (TSH, T3,T4) .Sur le plan histologique les vapeurs d'essence provoquent des altérations tissulaires des poumons et de la thyroïde.

Mots clés : mélatonine, vapeurs d'essence, thyroïde, stress oxydatif,foie,poumon .

Abstract:

Chronic exposure to petrol gasoline vapors, rich in volatile aromatic hydrocarbons, poses a major risk to human health. In this context, melatonin, a hormone secreted mainly by the pineal gland and known for its powerful antioxidant and anti-inflammatory properties, is of interest.

This study aims to evaluate the protective effect of melatonin against damage caused by gasoline vapor. The rats were divided into four groups: the control group (no treatment), the MLT group, which received MLT intraperitoneally (10 mg/kg), the VE group; the rats were exposed to petrol fumes (daily exposure for 1 hour over 90 days), and the group (VE + MLT) treated with VE and MLT. Inhalation of petrol fumes causes harmful effects on the body, resulting in slowed growth and disruption of blood count parameters, characterized by a decrease in the number of GB and PLT with a decrease in VGM and Hb levels. In addition, exposure of rats to petrol vapors led to an increase in plasma concentrations of LDH and CPK, indicators of cell damage, compared to the other groups (controls and treated). The results obtained show that exposure of rats to petrol fumes caused serious alterations of liver and cytotoxic biomarkers, revealed by an increase in plasma markers: transaminases (ALT, AST), lactate dehydrogenase (LDH) and bilirubin (BT). An overall PRO-oxidant effect, synonymous with a decrease in reduced glutathione (GSH) content, superoxide dismutase (SOD) enzyme activity, catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione S-transferase (GST), combined with an increase in MDA levels in the organs studied (liver and lungs). In addition, exposure of rats to gasoline vapors led to an increase in plasma concentrations of LDH and CPK, indicators of cell damage, and various disturbances in thyroid function parameters (TSH, T3, T4). Histologically, gasoline vapors caused tissue alterations in the lungs and thyroid.

Keywords: melatonin, gasoline vapour, thyroid , oxidative stress ,liver ,lung .

التعرض المزمن لبخار البنزين، الغني بالهيدروكربونات العطرية المتطايرة، يشكل خطراً كبيراً على صحة الإنسان. في هذا السياق، الميلاتونين، وهو هرمون يفرزه بشكل رئيسي الغدة النخامية ويشتهر بخصائصه المضادة للأكسدة والالتهابات.

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم تأثير الميلاتونين الوقائي ضد الأضرار الناجمة عن أبخرة البنزين. تم تقسيم الفئران إلى أربع عن طريق الحقن داخل الغشاء MLT التي تلقت MLT مجموعات: المجموعة المرجعية (بدون علاج)، والمجموعة ؛ تعرضت الفئران لبخار البنزين (تعرض يومي لمدة 90 يوماً)، VE البريتوني (10 مجم/كجم)، والمجموعة تسبب استنشاق أبخرة البنزين آثاراً ضارة على الجسم تتمثل MLT و VE التي عولجت بـ (VE + MLT) والمجموعة في تباطؤ نمو الجسم واضطراب في معايير تحليل الدم تتميز بانخفاض عدد الكريات البيضاء والصفائح الدموية مع انخفاض متوسط حجم الكريات البيضاء ومستوى الهيموجلوبين. بالإضافة إلى ذلك، أدى تعرض الفئران لبخار البنزين إلى في البلازما، وهي مؤشرات على تلف الخلايا، مقارنة بالمجموعات الأخرى (الشهادات CPK و LDH زيادة تركيزات والمعالجة). تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن تعرض الفئران لبخار البنزين تسبب في تغيرات خطيرة في المؤشرات ، (ALAT، ASAT) الحيوية الكبدية، والتي تم الكشف عنها من خلال زيادة المؤشرات البلازمية: الترانساميناسات وهو تأثير مؤكسد بشكل عام، مما يعني انخفاض محتوى الجلوتاثيون (BT) والبيليبروبين (LDH) اللاكتاتديهيدروجيناز ، والجلوتاثيونبيروكسيداز (CAT) ، والكاتالاز (SOD) ، ونشاط إنزيمات سوبروكسيدديسموتاز (GSH) المختزل في الأعضاء المدروسة (الكبد والرئتين). MDA ، مقترنة بزيادة في معدل (GST) ترانسفيراز-S ، والجلوتاثيون (GPx) في البلازما، وهي مؤشر على CPK و LDH بالإضافة إلى ذلك، أدى تعرض الفئران لبخار البنزين إلى زيادة تركيزات على المستوى النسيجي، تسبب . (TSH، T3، T4) تلف الخلايا، واضطرابات مختلفة في معايير وظيفة الغدة الدرقية . أبخرة البنزين تغيرات نسيجية في الرئتين والغدة الدرقية

- **الكلمات المفتاحية:** الميلاتونين، أبخرة البنزين، الغدة الدرقية، الإجهاد التأكسدي، الكبد، الرئة

Liste des figures

Figure 1 : Principales cibles des espèces réactives de l'oxygène (ERO)	14
Figure 2 : Les systèmes de défense antioxydative de l'organisme	14
Figure 3 : Structure chimique de l'acide ascorbique.....	18
Figure 4 : Structure chimique du tocphéro... ..	19
Figure 5 : Organisation des grandes glandes endocrines chez l'être humain	21
Figure 6. Principes des mécanismes d'action des hormones	22
Figure 7 : Hypothalamus et hypophyse	24
Figure 8. Sites d'action des hormones hypophysaires (Turquetil et al., 2019)	28
Figure 9. Représentation schématique des glandes surrénales (Turquetil et Reznik, 2019)....	25
Figure 10 : Représentation schématique des processeur d'action des perturbateurs endocriniens	31
Figure 11 : Structure de la mélatonine	33
Figure 12: Représentation schématique de la synthèse de la mélatonine	33
Figure13. Schéma représentatrice du protocole expérimental.....	40
Figure 14. Evaluation de l'activité du GSH hépatique et pulmonaire	58
Figure 15 : Evaluation de l'activité du GSH hépatique et pulmonaire	59
Figure 16: Evaluation de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase.....	60
Figure 17 : Étude de l'activité de la catalase hépatique et pulmonaire	61
Figure 18 : Étude de l'activité de la glutathion peroxydase hépatique et pulmonaire chez les lots témoins et exposés aux vapeurs d'essence.....	62
Figure19 : Evaluation de l'activité de la GST dans le foie les et les poumons chez les rats témoins et traités	63
Figure 20 : Etude histologique de la thyroïde.....	65
Figure 21 : Etude histologique des poumons	66

Liste des tableaux

Tableau 1. Classification des principales ERO radicalaires.....	10
Tableau 2 : Principaux squelettes structuraux des polyphénols	20
Tableau 3 :Caractérisations de l'essence en éléments traces métalliques	51
Tableau 4 : Evolution du poids corporel et des poids absolus et relatif des organes.....	53
Tableau 5: Évaluation des biomarqueurs plasmatiques dela fonction thyroïdienne	54
Tableau 6: Variation des paramètres enzymatique.....	55
Tableau 7 : Évaluation du profil hématologique	56
Tableau 8 :Variation des paramètres de la fonction thyroïdienne	57

Liste des abréviations

ACTH: Adrenocorticotropie hormone.

AGPI: acides gras polyinsaturés.

ADH: Antidiuretic hormone.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ASAT : Aspartate Aminotransférase.

ALAT : Alanine Aminotransférase.

BSA : Sérum albumine bovine.

CAT : Catalase.

CDNB : 1-chloro, 2,4-dinitrobenzène.

DDT: Dichlorodiphényl trichloréthane.

DHT: Dihydrotestosterone.

DO : Densité optique.

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle.

DTNB :Dithio- dis-2-nitrobenzoïque.

EROs : Espèces réactive de l'oxygène.

FNS : formule de numération sanguine.

FSH : Follicle-stimulating hormone.

GH: Growth hormone.

GH-RH: Growth Hormone Releasing Hormone.

GH-IH: growth hormone-inhibiting hormone.

GnRH: gonadotrophin releasing hormone.

GPx : glutathion peroxydase.

LPO : peroxydation des lipides.

MDA : Malondialdéhyde.

MLT : Mélatonine.

MLT + VE : melatonine + vapeurs d'essence

MSH: melanocyte-stimulating hormones.

NaCl: Chlorure de sodium.

NFS : Numération formule sanguine.

PE : perturbateurs endocriniens.

PRL : Prolactine.

PTH: Parathyroid hormone.

ROS: reactive oxygen species.

SH : Groupement thiol.

SO : système oxydatif

SOD : Superoxyde dismutase.

SSA : Sulfosalicylique.

SAA : spectrométrie d'absorption atomique

TBA : Acide thiobarbiturique.

TBS : Tris buffer saline.

TCA : Trichloracétique.

TSH: Thyroid-stimulating hormone.

TSH: Thyroid-stimulating hormone.

TRH: Thyrotropin Releasing Hormone.

T3: triiodothyronine.

T4: Thyroxine.

VE : Vapeurs d'essence

Introduction :

La santé humaine est étroitement liée à la qualité de l'environnement, car un air pur, une eau propre et un écosystème équilibré sont essentiels au bien-être physique et mental.

Les hydrocarbures sont des composés organiques exclusivement constitués d'hydrogène et de carbone possédant une formule brute de type C_nH_m , où n et m sont deux entiers naturels. Ils font partie des polluants organiques persistants (POPs). Leur présence dans l'environnement est de façon ubiquiste et ce, en raison de la multiplicité de leurs origines naturelles et anthropiques (Commendatore *et al.*, 2004; Volkman *et al.*, 1992).

Le potentiel de toxicité des hydrocarbures dépend de leur concentration atmosphérique, de leur volatilité. Les HAP se présentent sous la forme de mélanges complexes dont la composition en substances individuelles possédant chacune des caractéristiques toxicologiques propres. Certains HAP pouvaient induire spécifiquement de nombreux effets sur la santé ; des effets systémiques (hépatiques, hématologiques, immunologiques et développement d'athéroscléroses) et/ou des effets sur la reproduction ainsi que des effets génotoxiques et cancérigènes (Doornaert & Pichard, 2005).

Chez l'animal de laboratoire, l'inhalation chronique de ces vapeurs d'essence a été associée à des altérations métaboliques, telles que l'hyperlipémie, la perturbation du métabolisme glucidique et des lésions hépatiques (Uboh *et al.* 2007). par ailleurs, des études ont également signalé un impact sur les fonctions endocriniens, notamment une dysrégulation hormonale touchant la thyroïde, les surrénales et l'axe hypophysaire. (Zhao *et al.* 2022)

Un des mécanismes centraux dans cette toxicité est le stress oxydatif, induit par une surproduction d'espèces réactive de l'oxygène (ROS) et une défaillance des systèmes antioxydants endogènes (Jones. *Et al* 2015). Ce stress oxydatif est l'origine de peroxydation lipidique, et de lésions cellulaires irréversibles.

Face à ces effets délétères, certaines molécules à potentiel antioxydant et anti inflammatoires telles que la mélatonine, qui est une neurohormone sécrétée principalement par la glande pinéale de l'homme et des mammifères en réponse à l'obscurité

Son principal effet réside dans la régulation du cycle veille / sommeil, en ajustant le rythme circadien sur une période de 24 heures. Elle est fréquemment utilisée pour prévenir le décalage horaire et traiter les troubles du sommeil. De plus, elle agit comme un puissant antioxydant, contribuant à la prévention du stress oxydatif. Elle possède également un effet protecteur contre les dommages cellulaires et les radicaux libres. (Reiter, R. *et al.*, 2009). Elle pourrait jouer un rôle protecteur contre les effets métabolique et endocrines des vapeurs d'essence.

Des travaux ont aussi montré que la mélatonine pouvait réduire le taux de glucose sanguin, améliore le profil lipidique et restaurer l'équilibre hormonale notamment au niveau de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrenalien.

Ce travail a pour objectifs :

- Evaluation des indicateurs de croissance
- Détermination de quelques paramètres biochimiques et hématologiques
- La détermination du système pro/antioxydant repose sur la mesure des activités enzymatiques (SOD, GPx, CAT, GST) et des indicateurs non enzymatiques du stress oxydatif (GSH, MDA). Ces mesures aideraient à évaluer l'efficacité de la mélatonine dans la protection contre les dommages oxydatifs induits par l'essence.
- Analyse de l'essence par la technique SAA ce qui nous permet d'identifier les différents composants de l'essence en éléments traces métallique.
- Étude histologique des tissus pulmonaires et thyroïdiens.
- Le manuscrit se conclura par une conclusion générale, suivie de perspectives pour les futures recherches.

Ce travail vise aussi à :

- Évaluer les effets d'une exposition prolongée aux vapeurs d'essence sur les fonctions métabolique et endocrinienne chez le rat Wistar a travers l'analyse des paramètres chimique, hormonaux, hématologique et histopathologique.
- Etudier le rôle du stress oxydatif dans ces altération
- Examiner l'effet protecteur de la mélatonine face à ces perturbations, afin de déterminer son potentiel thérapeutique ou préventif.

Partie bibliographique

CHAPITRE I : LA POLLUTION ATMOSPHERIQUE

1. Généralité sur la pollution atmosphérique :

De nos jours, les phénomènes de pollution sont partout dans l'environnement. Ils indiquent la présence de substances à des niveaux excessifs par rapport à la norme, susceptibles de perturber le fonctionnement des différents écosystèmes. Plus précisément, la pollution de l'air se distingue par des concentrations d'éléments gazeux ou particuliers dans l'atmosphère qui peuvent avoir un impact négatif sur la santé ou l'environnement.

L'atmosphère est le siège permanent d'interactions physico-chimiques responsables de la dégradation du milieu, la partie de troposphère est la zone où sont produits et où évoluent les polluants (Bidleman 1988). La pollution atmosphérique est considérée sur différents plans, en tenant compte des sources d'émissions, des types de composés et des modifications qu'ils peuvent subir. Les composés émis directement par les sources polluantes, connus sous le nom de polluants « primaires », sont à l'origine de la pollution de l'air locale, affectant principalement les zones proches des activités génératrices. Au niveau mondial, les polluants sont modifiés par les conditions climatiques (vent, variations de température), ce qui contribue à la création de nouveaux polluants, appelés « secondaires », ainsi qu'à leur propagation sur de vastes étendues.

Parmi ces substances, on trouve des agents chimiques, physiques ou microbiologiques, de diverses origines et aux durées de vie variables dans l'environnement, qui peuvent générer des situations polluantes très hétérogènes. On distingue de plus la pollution formée de composés gazeux, principalement issue de l'utilisation de combustibles fossiles (gaz, pétrole et charbon de bois), de la pollution particulaire, constituée d'agglomérats complexes de particules solides et liquides présentes dans l'atmosphère. L'origine de ces émissions peut être naturelle ou anthropique. Par ailleurs, l'effet de serre, les pluies acides, la dégradation de la couche d'ozone et les effets climatiques, qui favorisent la propagation des composés, sont également considérés comme des phénomènes polluants. Ainsi, chaque composé est généralement classé par famille selon une réglementation particulière, par rapport à des caractéristiques physico-chimiques communes ou suivant les effets qu'ils peuvent induire chez l'homme et l'animal (CITEPA 2010).

2. Les Polluants Organiques Persistants

2.1 Propriétés physico chimiques :

Les polluants organiques persistants, constituent une catégorie de composés organiques subdivisée en plusieurs sous-ensembles : les polychlorodibenzo-p-dioxines (PCDD), les polychlorodibenzo-furanes (PCDF), les biphényles polychlorés (PCB), les éthers diphényliques polybromés (PBDE), les hexachlorobenzènes (HCB) et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). Ces substances partagent un certain nombre de caractéristiques physiques et chimiques, comme une stabilité élevée dans leur environnement qui favorise leur déplacement sur de longues distances par le biais de processus naturels (courants atmosphériques et marins) et une forte lipophilie qui facilite leur accumulation dans les tissus graisseux et leur passage à travers la chaîne alimentaire.

Les polluants organiques persistant qui ont été largement libérés dans l'environnement depuis plusieurs décennies et qui sont maintenant présents dans tous les écosystèmes, constituent aujourd'hui une menace significative pour l'homme, qui se trouve au sommet de la chaîne alimentaire. Étant donné leur vaste répartition et leur potentiel de toxicité, le suivi et la gestion des risques liés à l'exposition aux POPs sont une priorité.

2.2 Source et situation d'émission :

L'atmosphère est l'un des principaux moyens de transport et d'accumulation des substances chimiques d'origine naturelle et humaine, capable de les disséminer sur des distances considérables (Bae et al. 2002). Étant donné que la nature et la densité des substances libérées fluctuent en fonction de leur proximité à l'émetteur (Papageorgopoulou et al. 1999), on a tendance à classer les émissions polluantes selon leur provenance. Par conséquent, les composés libérés dans les espaces fermés diffèrent de ceux générés à l'extérieur en raison de la variété des sources d'émission.

La pollution atmosphérique, souvent liée à la pollution de l'air extérieur, englobe aussi la pollution intérieure provenant des activités et comportements individuels (comme fumer, faire du bricolage, s'occuper des plantes ou ventiler les pièces), des équipements (systèmes de chauffage, de production d'eau chaude, meubles) et des bâtiments (matériaux de construction, revêtements muraux et de sols). La pollution intérieure, autrefois sous-estimée en comparaison à la pollution extérieure, suscite désormais une attention croissante en raison de l'accroissement du temps passé (80 % du temps quotidien) à l'intérieur des espaces (domicile, bureau, école, voitures), ce qui expose les personnes à de hauts niveaux de contamination

(ANSES 2011, Dor et al. 2010, Duboudin 2009).

Le risque individuel pour la population générale est relativement faible, mais pour les populations sensibles, il peut être conséquent si l'état de santé et l'intensité de l'exposition favorisent l'apparition de troubles. En ce concerne le milieu professionnel les individus peuvent être exposés à des fortes concentrations de composés chimiques dont la nature et le temps d'exposition varient suivant le type de poste occupé (Vadali et al. 2009).

3. Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques

3.1 Caractéristiques physicochimiques des composés

Les HAP constituent une famille de polluants organiques caractérisés par la présence de deux à sept cycles benzéniques, regroupant près d'un millier de composés largement distribués dans l'environnement. Parmi cet ensemble, environ vingt-six composés représentent à eux seuls 90 à 95 % des émissions totales. Parmi ces derniers, 16 sont inscrits sur la liste des 275 substances prioritaires établie par l'Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). En 2007, l'ensemble des HAP occupait la huitième position dans ce classement (CERCLA, 2007).

Par ailleurs, le benzo pyrène (B(a)P) est couramment utilisé comme composé de référence en raison de sa forte toxicité (IARC, 1983).

3.2 sources d'émission

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques, correspondent à une famille de composés organiques formés lors de la combustion incomplète ou de la dégradation thermique de matières riches en carbone. Leur présence dans l'environnement résulte à la fois de phénomènes naturels, tels que l'activité volcanique et les incendies de végétation, et de multiples sources anthropiques notamment la combustion de combustibles fossiles, les émissions industrielles, le trafic routier ainsi que certains procédés de transformation du pétrole et des métaux. La fumée de tabac représente également une source notable de ces contaminants (ATSDR, 1995).

Dans l'air ambiant, ces composés se répartissent entre une phase gazeuse et une phase associée aux particules en suspension, contribuant à la formation de mélanges chimiques

complexes (Allen et al., 1996). La composition et les concentrations observées dépendent étroitement de l'origine des émissions ainsi que des conditions environnementales (Baek et al., 1991).

De manière générale, les HAP présents sous forme gazeuse, notamment le naphtalène et le fluorène, constituent la fraction prédominante dans les émissions atmosphériques. Les principales sources d'émission de ces composés se répartissent entre deux secteurs majeurs : le secteur résidentiel et tertiaire, qui représente environ 67,6 % des émissions et où la combustion de la biomasse — souvent réalisée dans des conditions peu contrôlées, comme les foyers ouverts domestiques — génère d'importantes quantités de HAP, et le secteur du transport routier (25,1 %), largement dominé par les émissions des véhicules diesel (CITEPA, 2010).

3.3 Mécanismes d'entrée des contaminants dans l'organisme

La contamination des différents compartiments de l'environnement facilite le transfert des HAP le long de la chaîne trophique, conduisant à leur bioaccumulation dans plusieurs matrices alimentaires d'origine animale, notamment le lait, la viande, les œufs et les produits issus de la pêche (Tao et al., 2004 ; Lodovici et al., 1995 ; Grova et al., 2002).

Par conséquent leur forte capacité de bioaccumulation au sein de la chaîne trophique ainsi que de leur persistance dans l'organisme, les HAP constituent un risque non négligeable pour la santé humaine. L'exposition à ces composés peut s'effectuer par différentes voies, notamment par l'ingestion d'aliments issus de procédés de cuisson tels que le grillage ou le fumage, l'ingestion accidentelle de sols contaminés, ainsi que par l'inhalation d'air pollué, en particulier celui contenant des émissions du trafic routier ou de la fumée de tabac (Cincinelli et al., 2004 ; Tsapakis et Stephanou, 2005 ; Liu et al., 2007)

En outre l'exposition aux hydrocarbures aromatiques polycycliques peut également se produire par voie cutanée, notamment lors de manipulations de matériaux. Chez les individus de la population générale, les principales voies d'absorption de ces composés restent l'ingestion et l'inhalation (ATSDR, 1995 ; Boström et al., 2002 ; Ramesh et al., 2004). À l'inverse, en contexte professionnel, les conditions d'exposition favorisent principalement les voies respiratoire et cutanée, en lien avec les spécificités des activités exercées (ATSDR, 1995

; Marczynski et al., 2009) (Tableau 4).

3.4 Evaluation du métabolisme

Comme le souligne l'ATSDR (1995), les hydrocarbures aromatiques polycycliques se distinguent par une cinétique d'accumulation marquée au sein de l'organisme. Ce processus de stockage progressif peut induire une charge polluante substantielle, même lors de séquences d'exposition relativement brèves.

Après leur pénétration cellulaire, ces molécules intègrent les voies de la biotransformation. La phase I du métabolisme est caractérisée par une oxydation médiée essentiellement par les isoenzymes du cytochrome P450. Ce processus aboutit à la formation d'époxydes réactifs instables qui, sous l'influence catalytique de l'époxyde hydrolase, sont convertis en métabolites hydroxylés.

Il convient de noter que certaines molécules initiales peuvent être directement transformées par hydroxylation, sans passer par la formation d'un intermédiaire de type époxyde.

Au cours de la phase II du métabolisme, ces dérivés hydroxylés subissent ensuite des réactions de conjugaison, lesquelles augmentent leur solubilité dans l'eau, participent à leur détoxification et en facilitent l'élimination par l'organisme (Grover, 1986).

le devenir des HAP chez l'homme est étroitement lié à leur poids moléculaire. Les molécules constituées 2 à 3 cycles aromatiques sont le plus souvent éliminées via les urines, tandis que celles présentant une structure polycyclique plus étendue, avec plus de 4 cycles, sont éliminés sous forme de déchets (Ramesh et al., 2004). Par ailleurs, ces composés subissent des transformations métaboliques conduisant principalement à la formation de dérivés oxygénés, notamment des phénols, des dihydrodiols et des produits présentant un degré d'oxydation plus élevé (Gmeiner et al., 2002). Dans cette optique, la mesure des niveaux des composés initiaux ainsi que de leurs métabolites dans divers compartiments biologiques constitue une approche essentielle pour estimer l'exposition des individus.

4. Toxicologie

En raison de leur présence généralisée dans l'environnement, les HAP ont suscité un intérêt scientifique considérable au cours des trois dernières décennies, notamment en toxicologie (ATSDR, 1995 ; Armstrong et al., 2004 ; IARC, 2010). Depuis environ trois décennies, la communauté scientifique s'intéresse de manière accrue aux HAP, principalement en

toxicologie, en raison de leur omniprésence dans les différents milieux environnementaux). L'évaluation des effets liés à une exposition aiguë aux HAP a fait l'objet d'un nombre limité d'études. Les valeurs de DL50 rapportées dans ces travaux suggèrent une toxicité globalement faible à modérée lors d'expositions aiguës à ces composés.

Les risques liés à l'exposition aux HAP sont principalement abordés sous l'angle de leur potentiel cancérogène. En effet, de nombreuses études *in vitro* et *in vivo* portant sur des expositions à des HAP ou à des mélanges en contenant ont mis en évidence des effets cancérogènes, génotoxiques et mutagènes.

Les investigations portant sur le potentiel cancérogène de ces composés ont principalement été réalisées dans le cadre d'expositions par voie cutanée, sous-cutanée ou par inhalation (OMS-IPCS, 1998). À ce jour, les travaux portant spécifiquement sur le B(a)P ont essentiellement concerné son exposition par inhalation, et ont montré que cette voie d'administration pouvait induire la formation de tumeurs dans le tractus respiratoire chez l'animal (Thyssen et al., 1981 ; Pauluhn et al., 1985).

Par ailleurs, des études menées chez le rongeur ont montré que l'instillation intratrachéale de composés de type HAP pouvait entraîner le développement de tumeurs pulmonaires (OMS-IPCS, 1998). De même, l'exposition par voie orale aux hydrocarbures a été associée à l'apparition de néoplasies touchant principalement le tractus gastro-intestinal, le foie, les poumons ainsi que les glandes mammaires (IARC, 1973, 1983 ; ATSDR, 1994 ; OMS-IPCS, 1998 ; Culp et al., 1998).

Des travaux réalisés chez de jeunes animaux ont également mis en évidence que l'administration de certains HAP par voie intrapéritonéale ou sous-cutanée pouvait conduire à l'apparition de tumeurs hépatiques et pulmonaires (IARC, 1973 ; Lavoie et al., 1987 ; Busby et al., 1988 ; Platt et al., 1990 ; ATSDR, 1994 ; OMS-IPCS, 1998). Par ailleurs, plusieurs auteurs attribuent la toxicité de ces composés à leur biotransformation métabolique, générant des intermédiaires réactifs susceptibles d'interagir avec l'ADN, l'ARN ou certaines protéines cellulaires (Gurtoo et al., 1983).

CHAPITRE II : GENERALITE SUR LE STRESS OXYDATIF

1. Généralité

Le stress oxydatif provient d'un déséquilibre dans la balance « pro-oxydants /antioxydants. » qui privilégie les oxydants. Cela entraîne des dommages oxydatifs sur tous les composants cellulaires : les lipides affectent les membranes cellulaires, les protéines (récepteurs enzymatiques et enzymes) sont modifiées. Les acides nucléiques sont exposés à un risque de mutation et de transformation cancéreuse. Un stress oxydant peut donc se produire à la suite d'une surproduction de composés oxydants tels que les espèces réactives de l'oxygène (Sergent et al., 2000).

2. Les radicaux libres formés au sein des systèmes biologiques

Les espèces radicalaires, également appelées radicaux libres, sont des molécules ou atomes instables produits naturellement au sein des systèmes biologiques, notamment lors du métabolisme cellulaire. Elles incluent principalement les espèces réactives de l'oxygène (ERO) telles que l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle. À faibles concentrations, ces espèces jouent un rôle important dans la signalisation cellulaire et les mécanismes de défense. Cependant, une production excessive ou un déséquilibre entre leur formation et les systèmes antioxydants de l'organisme conduit à un stress oxydatif, pouvant endommager les lipides, les protéines et l'ADN. (Carange, 2010).

Le spectre des molécules impliquées s'étend au-delà des seuls radicaux libres. En effet, certaines espèces dérivées de l'oxygène, regroupées sous l'appellation d'espèces réactives de l'oxygène, telles que l'oxygène $^1\text{O}_2$, le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 ou encore le nitro peroxyde ONOOH , ne possèdent pas la nature radicalaire. Toutefois, en raison de leur forte réactivité, elles peuvent participer à la formation de radicaux libres en agissant comme intermédiaires précurseurs. Ainsi, l'ensemble constitué par les radicaux libres et ces espèces non radicalaires est désigné sous le terme global d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (cf. tableau 1).

- **Tableau 1. Classification des principales ERO radicalaires et non radicalaires (Dwassy, 2014)**

Radicalaire	Non radicalaire
Radical superoxyde: $O_2^{\bullet-}$	Peroxyde d'hydrogène : H_2O_2
Radical hydroxyle: $OH^{\bullet}$	Ion hypochlorite : ClO^-
Peroxyle: $RO_2^{\bullet}$	Ozone : O_3
Alkoxy: $RO^{\bullet}$	Oxygène singulet : 1O_2
Hydropéroxy: $HO_2^{\bullet}$	Péroxinitrite : $ONOO^-$

3. Les espèces radicalaires générées dans les systèmes biologiques

Formation des espèces réactives de l'oxygène ERO résulte à la fois de processus internes à l'organisme et d'influences environnementales. Sur le plan endogène, ces espèces sont principalement issues de l'activité de certains compartiments cellulaires à forte consommation d'oxygène. D'autres mécanismes biochimiques contribuent également à leur formation, tels que la production de prostaglandines, l'auto-oxydation de l'adrénaline ou encore l'activité des cellules phagocytaires. De plus, certaines molécules et systèmes enzymatiques, comme la riboflavine sous forme réduite et le cytochrome P450, participent à ces processus. Plusieurs états physiopathologiques, incluant l'inflammation, les infections, l'activation immunitaire, les pathologies cancéreuses, le vieillissement ou l'ischémie, sont également à la production la production d'ERO (Phaniendra et al., 2015 ; Engwa, 2018).

Par ailleurs, des facteurs exogènes jouent un rôle non négligeable dans l'apparition de ces espèces au sein des systèmes biologiques. L'exposition à divers agents environnementaux, tels que la dégradation de la qualité de l'air et de l'eau, ainsi que l'exposition aux pesticides et aux solvants, constitue une source importante. (Pham-Huy, 2008).

4. Les altérations induites par le stress oxydatif au niveau des macromolécules biologiques

Étant donné que ces radicaux libres possèdent une grande réactivité, ils ont la capacité de nuire à trois catégories essentielles de molécules biologiques.

4.1. Processus d'oxydation des lipides

Egalement désignée sous le terme de lipo peroxydation, correspond à un processus d'altération oxydative affectant les lipides comportant une ou plusieurs doubles liaisons c-c. Ce processus se déroule classiquement en trois étapes successives : l'initiation, la propagation et la terminaison.

La phase d'initiation est déclenchée par l'intervention d'espèces pro-oxydantes, notamment certains radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles, alcoxyles et peroxydes. Ces agents sont capables d'extraire un atome d'hydrogène au niveau du groupement méthylène bis-allylique des acides gras, conduisant à la formation d'un radical pentadiényle. Ce dernier réagit rapidement avec l'oxygène moléculaire pour générer un radical peroxyde.

La phase de propagation correspond à une réaction en chaîne auto-entretenue. Elle débute lorsque le radical lipidique formé ($L\bullet$) interagit avec une molécule de dioxygène (O_2) pour produire un radical peroxyde ($LOO\bullet$). Ce radical est ensuite capable de capter un atome d'hydrogène à partir d'un autre lipide, formant ainsi un nouveau radical lipidique ($L\bullet$) et perpétuant le cycle réactionnel, ce qui entraîne une amplification progressive du phénomène oxydatif (Therond, 2006).

La phase de terminaison marque l'arrêt des réactions en chaîne et correspond à la formation de composés stables dépourvus de caractère radicalaire. Cette étape résulte généralement de la combinaison de deux radicaux libres ou de l'intervention de systèmes antioxydants. Les produits formés incluent notamment des hydroperoxydes lipidiques appartenant à la famille des peroxydes. Ces derniers peuvent soit être neutralisés par des mécanismes enzymatiques, en particulier via l'action de la glutathion peroxydase, ainsi que par des antioxydants lipophiles comme la vitamine E localisée dans la bicouche membranaire, soit subir des réactions de dégradation. Cette décomposition conduit à la formation de divers composés secondaires, tels que MDA, les iso prostanes et le 4-hydroxynonanal, largement reconnus comme des indicateurs majeurs du stress oxydatif au sein des tissus selon Haleng et al. (2007), Yin et al. (2011) et Singh et al. (2015).

4.2. Altération oxydative des protéines

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont capables de réagir avec différents acides aminés, entraînant une altération de leurs fonctions biologiques. Leur oxydation conduit à la formation de produits carbonylés et hydroxylés. Les espèces les plus réactives vis-à-vis des protéines sont le radical hydroxyle ($HO\bullet$) et le peroxyneutre ($ONOO\bullet$). L'anion superoxyde

($O_2^{\bullet-}$), bien que moins réactif, possède néanmoins un pouvoir oxydant suffisant pour modifier les groupements thiols (-SH) de la cystéine. Les acides aminés les plus sensibles à ces modifications incluent les acides aminés soufrés tels que la cystéine et la méthionine, les acides aminés basiques ainsi que les acides aminés aromatiques comme le tryptophane (Halliwell et Gutteridge, 2008).

4.3. Les altérations oxydatives de l'ADN

Les espèces réactives de l'oxygène, qu'elles soient d'origine endogène ou issues de facteurs environnementaux, sont susceptibles d'altérer diverses macromolécules cellulaires. L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, constitue une cible particulièrement vulnérable en raison de sa proximité avec les principaux sites de production des ERO, ainsi que de capacités de réparation plus limitées, notamment au niveau mitochondrial (Wallace, 2008). En effet, ces espèces peuvent interagir avec les acides nucléiques en attaquant à la fois les bases azotées et l'ossature sucre-phosphate. Ces interactions entraînent une grande diversité de lésions, incluant des cassures de simple et de double brin, des modifications structurales des bases, (Evans et al., 2004, Gredilla, 2011).

La détection de la 8-hydroxy-2'-désoxyguanosine (8-OHdG), considérée comme un marqueur fiable des lésions oxydatives de l'ADN, témoigne de l'ampleur des dommages subis par le matériel génétique. L'accumulation de cette modification peut favoriser l'apparition d'altérations mutagènes, contribuant ainsi de manière significative aux processus de carcinogenèse (Cooke et al., 2003).

Plus largement, les lésions oxydatives de l'ADN sont reconnues comme des éléments clés dans la survenue de nombreuses pathologies. Elles interviennent dans la physiopathologie de plusieurs maladies majeures, incluant les cancers, les affections neurodégénératives, les pathologies cardiovasculaires ainsi que les maladies inflammatoires chroniques (Thanan et al., 2015 ; Lima et al., 2019).

5. Implication du stress oxydatif dans les mécanismes physiopathologiques associés à diverses maladies

Les processus radicalaires participent de manière normale au bon fonctionnement de l'organisme lorsqu'ils sont maintenus à des niveaux physiologiques. Toutefois, un déséquilibre survient lorsque leur production devient excessive et dépasse les capacités des systèmes antioxydants de défense (Rahman, 2007). Dans ces conditions, l'accumulation de

radicaux libres peut entraîner des altérations oxydatives touchant diverses biomolécules, notamment les lipides, les protéines, les lipoprotéines ainsi que l'acide désoxyribonucléique (ADN). Cette perturbation conduit à une rupture de l'équilibre redox cellulaire et favorise l'installation d'un état de stress oxydatif.

Ce dernier est impliqué dans la physiopathologie de nombreuses affections, dans lesquelles les mécanismes radicalaires jouent un rôle déclencheur ou aggravant. Il contribue ainsi à la progression de maladies chroniques et dégénératives, ainsi qu'à l'accélération des processus de vieillissement. Parmi ces pathologies figure notamment le diabète sucré, pour lequel une implication du stress oxydatif a été largement rapportée (Vanessa et al., 2013 ; Bashan et al., 2009)

Le stress oxydatif est associé à de nombreuses pathologies touchant différents systèmes biologiques. Sur le plan neurologique, il intervient dans la physiopathologie des troubles neurodégénératifs, notamment la Parkinson, l'Alzheimer et la sclérose en plaques (Uttaraa et al., 2009). Il est également impliqué dans les maladies pathologies cardiovasculaires (Ceriello, 2008 ; Cervantes et al., 2017), ainsi que dans les affections respiratoires, incluant l'asthme et la maladie pulmonaire selon Caramori et Papi (2004)

Par ailleurs, un rôle du stress oxydatif a été mis prouvé dans la cataractogenèse, la polyarthrite rhumatoïde ainsi que dans Plusieurs types de cancers ont été associés à ce phénomène, notamment ceux du côlon, de la prostate, du sein, du poumon et de la vessie (Pizzino et al., 2017 ; Phaniendra et al., 2015). Par ailleurs, il est également impliqué dans diverses pathologies rénales, telles que la néphrite interstitielle, les atteintes glomérulaires et tubulaires, l'insuffisance rénale, la protéinurie ainsi que l'urémie (Karam et al., 2013 ; Droge, 2002).

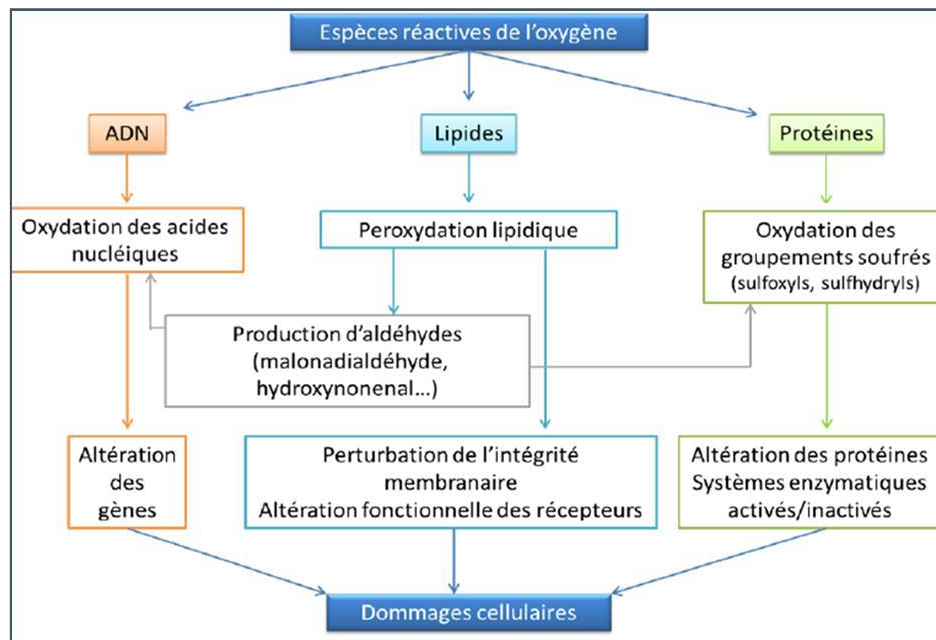
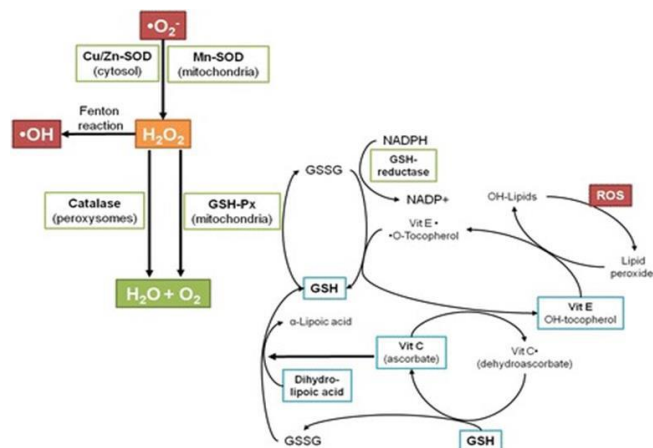


Figure 1 : Principales cibles des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Monteil, 2004)

6. Mécanismes antioxydants de protection de l'organisme

Les antioxydants, en termes général, englobent toutes les molécules capables d'entraver directement la création, de restreindre la diffusion ou de neutraliser les EROs. Selon Valko et al. (2007), ces antioxydants ont la possibilité d'intervenir en diminuant, éliminant et capturant les EROs pour créer Ce dernier est un composé stable .



- **Figure 2.** Les systèmes de défense antioxydative de l'organisme (Kurutas, 2015).

Les mécanismes de défense cellulaire reposent sur un ensemble coordonné de systèmes comprenant les enzymes antioxydantes, les molécules antioxydantes non enzymatiques ainsi que divers facteurs de transcription. Ces systèmes agissent selon plusieurs modalités, notamment la neutralisation de l'oxygène singulet, l'inactivation des radicaux libres par réactions d'addition covalente, la réduction des espèces radicalaires ou des peroxydes, ainsi que la chélation des ions métalliques de transition (Luczaj et al. ; 2017).

6.1. Les mécanismes enzymatiques de défense anti oxydative

6.1.1 Les enzymes superoxyde dismutases

Les SOD sont des métalloenzymes présentes chez les mammifères sous trois isoformes principales. Elles se distinguent par la nature de leurs cofacteurs métalliques, leur localisation intracellulaire ainsi que leur répartition spécifique au sein des différents tissus.

La superoxyde dismutase cuivre-zinc CuZn-SOD est localisée principalement dans le cytosol ainsi que dans certains compartiments intracellulaires, et se retrouve dans la quasi-totalité des cellules des mammifères (Laukkannen et al., 2016).

De son côté, la superoxyde dismutase à manganèse Mn- SOD , parfois associée au fer selon certaines classifications, est essentiellement située au niveau mitochondrial, où elle est exprimée dans la majorité des cellules des mammifères selon Weisiger et Fridovich (1973) et Laukkanen et al. (2016)

6.1.2. Les glutathion peroxydases (GPx)

La glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme antioxydante essentielle impliquée dans la protection des cellules contre le stress oxydatif. Elle catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ainsi que des hydroperoxydes organiques en eau et en alcools correspondants, en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme donneur d'électrons. Au cours de cette réaction, le GSH est oxydé en glutathion disulfure (GSSG), contribuant ainsi à la détoxification des espèces réactives de l'oxygène et au maintien de l'équilibre redox cellulaire selon Ganthe, (2014) et Boubali (2017).

Sur le plan fonctionnel, la GPx intervient dans la détoxification des peroxydes en catalysant leur réduction. Elle permet ainsi la conversion du peroxyde d'hydrogène ou des hydroperoxydes en eau ou en alcools correspondants. Cette réaction s'effectue en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur, lequel est simultanément oxydé en glutathion

disulfure (GSSG). De manière plus générale, elle joue un rôle dans la transformation des hydroperoxydes lipidiques en composés alcoolisés (ROH), contribuant ainsi à la prévention cellulaire contre le stress oxydatif (Valko et al., 2006).

6.1.3. Définition des glutathion S-transférases (GSTs)

Les glutathion S-transférases (GST) constituent une famille d'enzymes impliquées dans les processus de détoxification cellulaire. Leur fonction principale repose sur la catalyse de la conjugaison du glutathion réduit (GSH) avec une large diversité de composés électrophiles, qu'ils soient d'origine endogène ou exogène. Ces substrats incluent notamment les espèces réactives de l'oxygène (ERO), ainsi que divers xénobiotiques et agents cancérogènes présents dans l'environnement (Nissar et al., 2017).

Les GSTs sont classées en deux grandes catégories : les formes microsomales, associées aux membranes, et les formes cytosoliques. Chez l'Homme, ces enzymes sont également réparties en huit classes distinctes, définies en fonction de leurs caractéristiques structurales et de leurs propriétés biochimiques

6.1.4. Définition la catalase

Sont des enzymes antioxydantes responsables de la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en dioxygène. Leur structure tétramérique est constituée de quatre sous-unités protéiques identiques, chacune renfermant un groupement hème ainsi qu'une molécule de NADPH.

Ces enzymes sont particulièrement abondantes dans le foie et les érythrocytes, bien qu'elles soient également présentes dans de nombreux autres tissus. Au niveau intracellulaire, elles sont principalement localisées dans les peroxysomes, où elles participent à la régulation du H_2O_2 produit par les enzymes oxydases, limitant ainsi sa diffusion vers le cytosol et les autres compartiments cellulaires (Valko et al., 2006).

6.2 Les mécanismes antioxydants non enzymatiques

6.2.1. Le glutathion GSH

Le glutathion (GSH) est un tripeptide multifonctionnel impliqué à plusieurs niveaux dans les mécanismes de défense contre le stress oxydatif. Il peut neutraliser directement certaines espèces réactives de l'oxygène, bien qu'il intervienne principalement en tant que cofacteur de

la glutathion peroxydase, enzyme responsable de la réduction des lipides peroxydés.

En complément de ses fonctions enzymatiques, le glutathion réduit (GSH) intervient dans le transport transmembranaire de certains acides aminés à travers la membrane plasmique. Il possède également une capacité antioxydante directe en neutralisant des espèces hautement réactives, notamment le radical hydroxyle ainsi que l'oxygène singulet. De plus, il participe activement à l'équilibre redox cellulaire, la régénération des vitamines C et E, contribuant ainsi au maintien de l'équilibre du système antioxydant cellulaire selon Birkk (2013) ET Kurutass, (2016)

6.2.2. définition de L'acide alpha-lipoïque

En complément de ses fonctions enzymatiques, le glutathion réduit (GSH) intervient dans le transport transmembranaire de certains acides aminés à travers la membrane plasmique. Il possède également une capacité antioxydante directe en neutralisant des espèces hautement réactives, notamment le radical hydroxyle ainsi que l'oxygène singulet. De plus, il participe activement à l'équilibre redox cellulaire en favorisant la régénération des vitamines C et E, contribuant ainsi au maintien du système antioxydant global de la cellule.

6.2.3. La mélatonine

La mélatonine (N-acétyl-5-méthoxytryptamine) constitue l'un des principaux médiateurs sécrétés par la glande pinéale au niveau cérébral. Elle est largement reconnue pour la diversité de ses fonctions biologiques. De nombreuses études ont mis en évidence son implication à la fois comme piègeur direct de radicaux libres et comme antioxydant indirect. En outre, elle exerce également une activité immunomodulatrice significative, contribuant ainsi à la régulation des réponses immunitaires d'après Kurutass (2016).

6.2.4. L'acide urique

L'acide urique est produit à la suite de l'oxydation de l'hypoxanthine et de la xanthine, réaction de catalyse. En milieu physiologique, il est principalement présent sous forme ionisée, correspondant à l'urate (UrH_2^-). Dans le compartiment plasmatique, cette molécule exerce une activité antioxydante importante en agissant comme capteur de radicaux libres. Elle présente notamment une forte affinité pour les radicaux hydroxyles ($\bullet\text{OH}$), peroxydes

(ROO•) ainsi que les espèces de type peroxynitrite (NOO•), qu'elle neutralise efficacement (Haleng et al., 2007).

6.2.5. Le Coenzyme Q 10

un ubiquinone UQ, est un composé liposoluble produit de manière endogène par les cellules, bien qu'il puisse également être apporté par l'alimentation. Il agit comme un antioxydant puissant impliqué dans la neutralisation des ERO. Par ce biais, il participe à la protection des structures biologiques, notamment les membranes de la lymphe, le système vasculaire ainsi que l'endothélium selon Quinzii (2007) et Motohashi (2017).

6.2.6. L'acide ascorbique

Ses propriétés biologiques reposent essentiellement sur son fort pouvoir réducteur. Il agit principalement en neutralisant de manière efficace divers radicaux libres, notamment les radicaux superoxydes et hydroxyles. En outre, il contribue au maintien de l'équilibre antioxydant en régénérant la vitamine E, limitant ainsi les processus d'oxydation lipidique. À pH physiologique, la vitamine C se retrouve majoritairement sous forme ionisée, correspondant à l'ascorbate (Camarena et Wang, 2016).

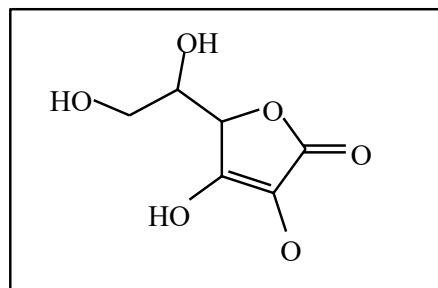


Figure 3 : Structure chimique de l'acide ascorbique

6.2.7. La vitamine E

Elle correspond à un ensemble de composés appelés tocophérols, comprenant plusieurs formes (α , β , γ et δ) dont l'activité antioxydante varie. Parmi elles, l' α -tocophérol est considéré comme la forme la plus biologiquement active.

Grâce à sa nature lipophile, la vitamine E s'intègre facilement au sein des membranes cellulaires ainsi que dans les lipoprotéines, en s'associant aux chaînes d'acides gras. Cette

localisation lui confère un rôle protecteur essentiel, puisqu'elle limite l'extension des réactions de peroxydation provoqué par le stress oxydatif (Joshi et Pratic, 2012 ; Gulcin, 2012).

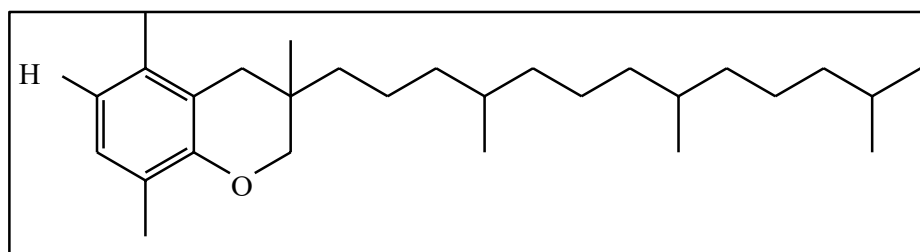


Figure 4 : Structure chimique du tocophérol

6.2.8. Les oligo-éléments

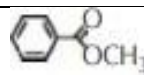
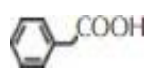
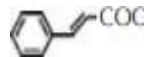
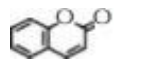
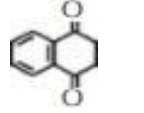
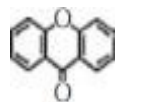
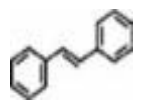
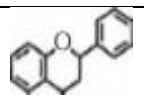
(Le sélénium) agit notamment comme cofacteur de la glutathion peroxydase ainsi que d'autres séléno protéines. Il est associé à des effets antioxydants reconnus et présente également des propriétés anti-carcinogènes.

(Le zinc) participe à l'activité de la superoxyde dismutase et exerce son action protectrice jouant un rôle protecteur par la régulation du glutathion et la modulation des métallothionéines, contribuant au maintien de l'équilibre redox cellulaire.

6.2.9. Les polyphénols

Les polyphénols constituent une large famille de métabolites secondaires d'origine végétale, regroupant plusieurs sous-classes telles que les acides phénoliques, les flavonoïdes ou encore les anthocyanes. Leur classification repose notamment sur le nombre d'atomes de carbone présents ainsi que sur leur organisation structurale (Tableau 2). Dans les systèmes biologiques, ces composés se retrouvent le plus souvent sous forme conjuguée, associés à des sucres ou à divers acide.

Tableau 2 : Principaux squelettes structuraux des polyphénols (Crozier et al., 2008)

Nombre de carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de Base
7	C6-C1	Acides phénols	Acide gallique	
8	C6-C2	Acétophénone	Gallacétophénone	
8	C6-C2	Acides hydroxycinamiques	Acide p-hydroxy-Phénylacétique	
9	C6-C3	Acide phénylacétique	Acide p-Coumarique	
9	C6-C3	Coumarines	Esculitine	
10	C6-C	Naphthoquinones	Juglone	
13	C6-C1-C6	Xanthones	Mangiférine	
14	C6-C2-C6	Stilbènes	Resvératrol	
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes	Naringénine	

CHAPITRE 3 : Physiologie et rôle du système endocrinien

1. Généralités sur le système endocrinien

1.1 Définition

L'organisation du système endocrinien regroupe un ensemble de glandes réparties dans l'organisme, dont la fonction principale est la synthèse et la sécrétion d'hormones. Ces dernières correspondent à des messagers chimiques endogènes libérés dans la circulation sanguine, qui assurent leur transport jusqu'aux organes ou tissus cibles. Une fois arrivées à destination, elles interagissent avec des récepteurs spécifiques, ce qui induit diverses réponses biologiques, telles que la modulation de la sécrétion hormonale, des modifications métaboliques ou encore des ajustements comportementaux, selon la nature de l'hormone et du tissu cible (Counis et al., 2005).

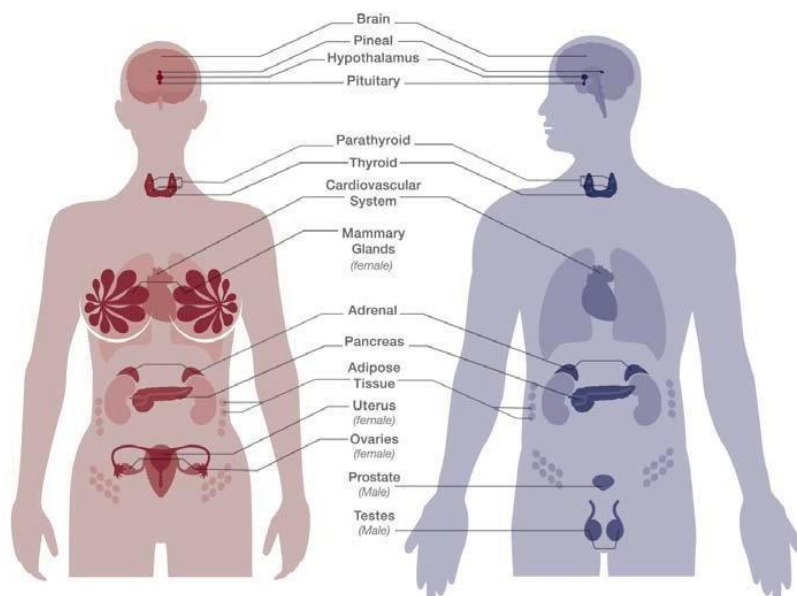


Figure 5. Organisation des grandes glandes endocrines chez l'être humain (Gore et al., 2009).

La réponse d'une cellule cible à une hormone dépend de la présence de récepteurs spécifiques capables de reconnaître et de lier cette hormone de façon complémentaire. Ainsi, c'est l'expression de ces récepteurs qui détermine la sensibilité cellulaire à un signal hormonal (Ludwig, 2011). Selon la nature de l'hormone, ces récepteurs peuvent être localisés soit au niveau de la membrane plasmique, dans le cas des hormones peptidiques (Figure 06, cellule cible A), soit à l'intérieur de la cellule, pour les hormones stéroïdiennes et thyroïdiennes (Figure 02, cellule cible B) (Nussey et Whitehead, 2006).

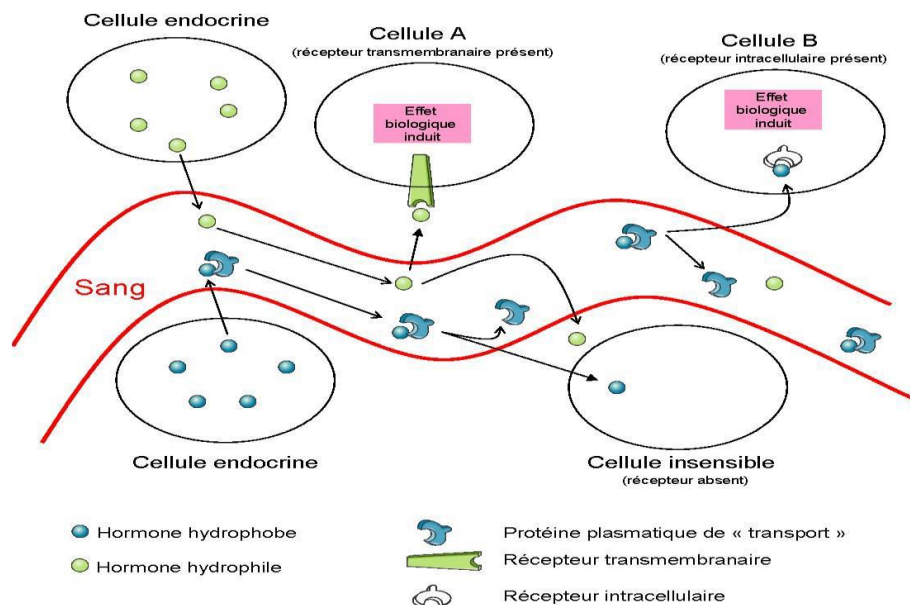


Figure 6. Principes des mécanismes d'action des hormones (Ludwig, 2011)

2. Anatomie et fonction des glandes endocrines

2.1 Généralités

Les glandes endocrines, également appelées glandes à sécrétion interne, ont la capacité de libérer leurs hormones directement dans la circulation sanguine ou la lymphe. Elles sont généralement richement vascularisées, ce qui facilite la distribution rapide des hormones dans tout le corps.

2.2 Les glandes majeures du système endocrinien

La sécrétion de la glande endocrine se fait directement la circulation sanguine ou lymphatique et se caractérisent généralement par une riche vascularisation. Parmi les principales glandes endocrines, on distingue l'épiphyse, l'hypophyse, la thyroïde, les parathyroïdes, les glandes surrénales, le pancréas ainsi que les gonades.

2.2.1. Organisation fonctionnelle du complexe hypothalamo-hypophysaire

2.2.1.1. Epiphyse

La glande pinéale, ou épiphyse, est située à la partie postérieure du toit du troisième ventricule

cérébral. Elle est formée d'amas de cellules gliales et de cellules endocrines spécialisées, les pinéaloctes. Ces cellules assurent la production de mélatonine à partir de la sérotonine, un processus étroitement régulé par l'intensité lumineuse

La sécrétion de mélatonine s'effectue principalement durant la phase nocturne et participe à la régulation de l'horloge biologique humaine, notamment du cycle nyctéméral (Schuster, 2007). Cette hormone, impliquée dans la modulation des rythmes veille-sommeil, intervient également dans divers processus physiologiques, tels que la reproduction, la prolifération cellulaire, ainsi que la régulation du poids corporel et de l'équilibre énergétique (Reiter et al., 2009).

En outre, la mélatonine module la synthèse ainsi que l'activité des hormones stéroïdiennes, notamment les œstrogènes, la testostérone et la progestérone. De nombreuses données expérimentales ont également mis en évidence son action inhibitrice sur l'angiogenèse et la prolifération tumorale. Ces effets reposent sur différents mécanismes, parmi lesquels la diminution de l'absorption des acides gras par les cellules cancéreuses, l'inhibition de la télomérase favorisant l'induction de l'apoptose, la réduction de la production d'endothéline-1 impliquée dans l'angiogenèse, ainsi que des processus épigénétiques. La mélatonine participe également à l'induction de la mort cellulaire programmée et à la régulation du cycle cellulaire (Mediavilla et al., 2010).

L'hypothalamus, l'hypophyse (Figure 7) ainsi que les structures situées au voisinage du troisième ventricule cérébral forment un ensemble fonctionnel jouant un rôle de relais. Celui-ci a pour fonction de collecter diverses informations issues à la fois de l'environnement et de l'organisme, transmises sous forme d'afférences sensorielles (visuelles, olfactives et viscéro-somatiques). Ces données sont ensuite analysées, intégrées et modulées, permettant leur filtration ou leur amplification en fonction des besoins physiologiques (Schuster, 2007)

À l'issue de ce processus de tri et de synchronisation, assuré en grande partie par le système limbique, les informations sont acheminées sous forme de signaux nerveux et de neurotransmetteurs vers des régions spécifiques de l'hypothalamus. Celui-ci exerce ensuite un contrôle sur l'hypophyse grâce à la libération d'hormones hypophysiotropes, modulant ainsi l'activité des cellules hypophysaires soit par stimulation ou inhibition directe de leur sécrétion, soit par ajustement de leur niveau de régulation.

Les hormones hypophysaires interviennent à l'échelle systémique dans la régulation des fonctions physiologiques, contribuant ainsi au maintien de l'homéostasie (Schuster, 2007). À ce titre, le complexe hypothalamo-hypophysaire apparaît comme un centre intégrateur majeur,

assurant la coordination des réponses neuroendocriniennes de l'organisme.

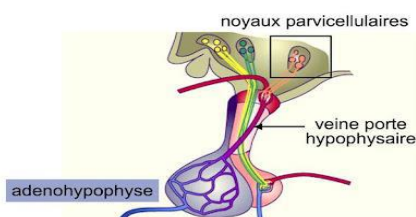


Figure 7. Hypothalamus et hypophyse

L'hypothalamus, formé à partir des parois du troisième ventricule, constitue une structure charnière assurant la liaison fonctionnelle entre les systèmes nerveux et endocrinien. Concernant les hormones synthétisées par l'hypothalamus ce sont 2 hormones, stockées au niveau de l'hypophyse avant leur libération dans la circulation sanguine : l'hormone antidiurétique (ADH), et l'ocytocine. Par ailleurs, il produit des hormones hypothalamiques de type libérines, impliquées dans la régulation des sécrétions hypophysaires (Guillemin, 2005), parmi lesquelles figurent les principales suivantes :

La GnRH ou La gonadolibérine est sécrétée de manière pulsatile en période basale, avec une fréquence variante approximativement entre 40 et 130 minutes selon l'espèce. Elle est produite par des neurones situés au niveau du noyau arqué ou de l'aire préoptique de l'hypothalamus. Son action s'exerce via des récepteurs spécifiques exprimés par les cellules gonadotropes de

Le récepteur de la GnRH appartient à la famille des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G. Son activation par la GnRH entraîne une augmentation de la transcription de son propre gène, ainsi que de celle des gènes codant pour les hormones gonadotropes FSH et LH (Counis et al., 2005).

2.2.1.2. Hypophyse

L'hypophyse, ou glande pituitaire, est une petite glande endocrine située à la base du cerveau, dans la selle turcique de l'os sphénoïde, et reliée à l'hypothalamus par la tige pituitaire. Elle joue un rôle central dans la régulation du système endocrinien en sécrétant des hormones qui contrôlent de nombreuses fonctions physiologiques, notamment la croissance, le métabolisme, la reproduction et l'équilibre hydrique. Elle est constituée de deux lobes principaux : l'adénohypophyse (partie antérieure) et la neurohypophyse (partie postérieure), chacun ayant des fonctions hormonales spécifiques. (Figure 8). (Lohmeier, T.E.,2003).

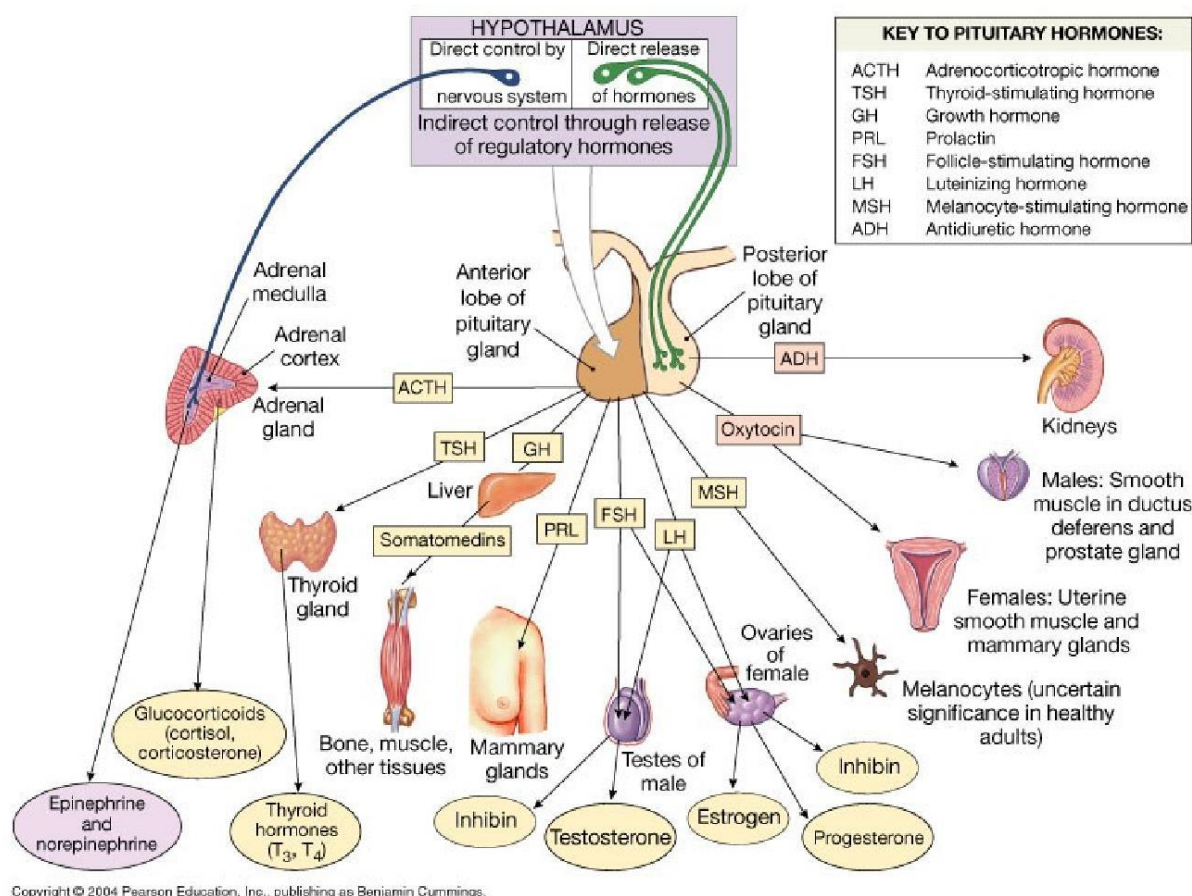


Figure 8. Sites d'action des hormones hypophysaires (Turquéttil et al., 2019)

L'adénohypophyse, correspondant au lobe antérieur de l'hypophyse, regroupe des cellules

endocrines spécialisées dans la synthèse hormonale. À la différence du lobe postérieur, elle constitue un site majeur de production et de sécrétion hormonale. À ce jour, six hormones adénohypophysaires ont été identifiées, chacune exerçant des effets physiologiques spécifiques au sein de l'organisme (Figure 9) (Marieb, 1993).

Les hormone hypophysaire LH et FSH sont des hormones hétérodimériques composées d'une sous-unité α commune, correspondant à une glycoprotéine ($gp\alpha$), et d'une sous-unité β spécifique à chacune d'elles. Elles ont des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G. La liaison du ligand à ces récepteurs conduit, au terme de la cascade de signalisation, à l'activation de la transcription des gènes cibles (Don et Stelzer, 2002). Chez l'homme comme chez la femme, la FSH joue un rôle clé dans la gamétogenèse en stimulant la formation des spermatozoïdes et des ovocytes, tandis que la LH intervient principalement dans la régulation de la production des hormones gonadiques. Lorsque les concentrations circulantes de ces hormones augmentent, un mécanisme de rétrocontrôle négatif s'exerce, entraînant une inhibition de la sécrétion de FSH et de LH.

Les principales hormones de l'adénohypophyse comprennent la thyrotrophine (TSH), la corticotrophine (ACTH), l'hormone de croissance (GH) et la prolactine (PRL), chacune exerçant des fonctions spécifiques. La TSH régule l'activité et le développement de la glande thyroïde, tandis que l'ACTH stimule la corticosurrénale en favorisant la sécrétion de glucocorticoïdes impliqués dans la réponse au stress. La GH intervient dans la croissance et le métabolisme en agissant sur divers tissus, notamment via la stimulation de la synthèse protéique et de la prolifération cellulaire. Enfin, la prolactine joue un rôle central dans le développement mammaire et la lactation, tout en participant à d'autres processus physiologiques. (Wagner *et al.*, 2009).

La somatotrophine, ou hormone de croissance (GH), représente l'une des principales hormones protéiques produites par l'adénohypophyse. Elle agit sur un large éventail de cellules en favorisant leur prolifération et leur croissance. Toutefois, ses effets s'exercent principalement au niveau des tissus osseux et des muscles squelettiques.

La GH intervient également dans la régulation de plusieurs processus métaboliques au sein de différents organes, notamment le foie, l'intestin et le pancréas. Elle favorise la synthèse protéique, stimule la lipolyse et contribue à l'augmentation de la glycémie. Chez le mâle, elle exerce en outre des actions extragonadiques, incluant le développement et le maintien de la taille du pénis, la maturation des canaux spermatiques au cours de l'adolescence ainsi que la stimulation de la synthèse enzymatique dans certaines glandes annexes. Par ailleurs, la GH

participe aussi à la régulation des fonctions gonadiques, en soutenant la spermiogenèse, la production d'androgènes et la mobilité des spermatozoïdes (Marieb, 1993)

2.2.2. La glande thyroïde

La thyroïde est une glande endocrine située à la partie antérieure du cou, en avant de la trachée, juste sous le larynx. Elle est constituée de deux lobes reliés par un isthme et possède une structure folliculaire spécialisée dans la synthèse des hormones thyroïdiennes.

Elle sécrète principalement deux hormones : la thyroxine (T4) et la triiodothyronine (T3), ainsi que la calcitonine, impliquée dans la régulation du métabolisme du calcium. Les hormones T3 et T4 jouent un rôle essentiel dans le contrôle du métabolisme basal, la croissance, le développement du système nerveux et la régulation de la température corporelle.

La production des hormones thyroïdiennes est elle-même contrôlée par la TSH (thyroïdostimuline), sécrétée par l'hypophyse, dans le cadre de l'axe hypothalamo hypophyso-thyroïdien. (Maran, R.R.,2003).

2.2.3. Les glandes parathyroïdes

Les glandes parathyroïdes sont de petites glandes endocrines généralement au nombre de quatre, situées à la face postérieure de la glande thyroïde dans le cou. Elles sécrètent principalement la parathormone (PTH), une hormone essentielle à la régulation du métabolisme du calcium et du phosphore.

La PTH augmente la concentration de calcium dans le sang en stimulant la libération du calcium osseux, en favorisant sa réabsorption au niveau rénal et en activant indirectement son absorption intestinale via la vitamine D. Ainsi, les glandes parathyroïdes jouent un rôle fondamental dans le maintien de l'homéostasie calcique et l'équilibre minéral de l'organisme. (Talmage 2008).

2.2.4 Les glandes surrénales

les glandes surrénales sont deux glandes endocrines situées au pôle supérieur de chaque rein. Elles sont constituées de deux régions distinctes sur le plan structurel et fonctionnel : la corticosurrénale en périphérie et la médullosurrénale en zone centrale.

La corticosurrénale synthétise des hormones stéroïdiennes à partir du cholestérol. Elle

comprend trois zones : la zone glomérulée, responsable de la sécrétion des minéralocorticoïdes (principalement l'aldostérone) impliqués dans la régulation de l'équilibre hydro-électrolytique et de la pression artérielle ; la zone fasciculée, qui produit les glucocorticoïdes (principalement le cortisol) jouant un rôle majeur dans le métabolisme énergétique et la réponse au stress ; et la zone réticulée, qui sécrète des androgènes surrénaliens intervenant dans les caractères sexuels secondaires.

La médullosurrénale, quant à elle, est constituée de cellules chromaffines dérivées du système nerveux sympathique. Elle sécrète les catécholamines, principalement l'adrénaline et la noradrénaline, impliquées dans la réponse aiguë au stress (réaction de "combat ou fuite"), en augmentant la fréquence cardiaque, la pression artérielle et la disponibilité énergétique. Ainsi, les glandes surrénales jouent un rôle essentiel dans l'adaptation de l'organisme aux variations de l'environnement et au maintien de l'homéostasie. (Figure 9). (Rosol, T.J., et al.,2001).

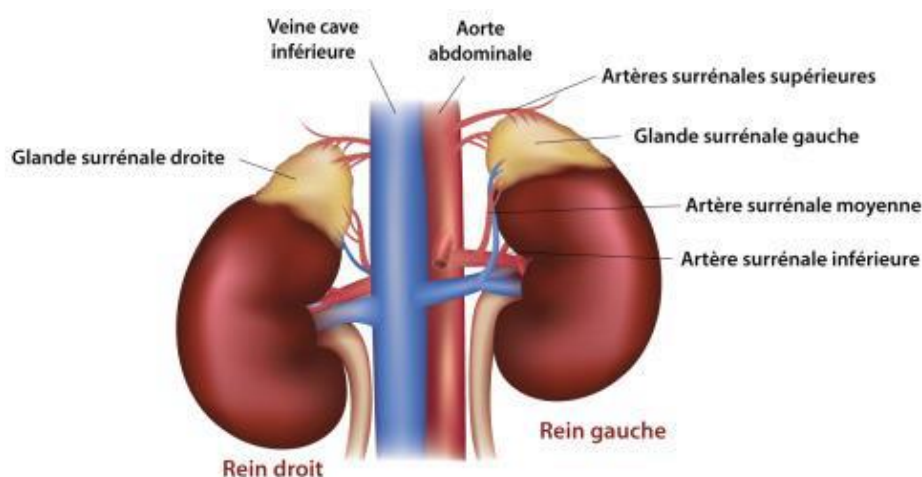


Figure 9. Représentation schématique des glandes surrénales (Turquetil et Reznik, 2019)

2.2.5. Le pancréas

Le pancréas est une glande mixte située dans la cavité abdominale, en arrière de l'estomac, et en relation étroite avec le duodénum. Il possède une double fonction, à la fois exocrine et endocrine, ce qui en fait un organe essentiel à la régulation de la digestion et de l'homéostasie métabolique. (Andrali, S.S., et al., 2008)

Sur le plan exocrine, le pancréas est constitué d'acini qui sécrètent des enzymes digestives

(amylase, lipase, protéases) déversées dans le duodénum via le canal pancréatique, contribuant ainsi à la digestion des glucides, lipides et protéines(Engelking,1997)..

Sur le plan endocrine, il est organisé en îlots de Langerhans, constitués de différents types cellulaires. Les cellules β sécrètent l'insuline, hormone hypoglycémisante favorisant l'entrée du glucose dans les cellules et son stockage. Les cellules α produisent le glucagon, hormone hyperglycémisante stimulant la libération de glucose à partir des réserves hépatiques. D'autres cellules endocrines (δ notamment) sécrètent la somatostatine, qui module l'activité des autres hormones pancréatiques.

Ainsi, le pancréas joue un rôle central dans la régulation de la glycémie et le maintien de l'équilibre énergétique de l'organisme. (Engelking,1997).

2.2.6. Les ovaires

Les ovaires sont des gonades féminines paires situées dans la cavité pelvienne, de part et d'autre de l'utérus. Ils remplissent une double fonction, à la fois reproductrice et endocrine, essentielle au fonctionnement de l'appareil génital féminin.

Sur le plan reproducteur, ils assurent l'ovogenèse ainsi que la maturation cyclique des follicules ovariens, conduisant à l'ovulation et à la libération d'un ovocyte fécondable. Ce processus est étroitement contrôlé par les gonadotropines hypophysaires, principalement la FSH (hormone folliculo-stimulante) et la LH (hormone lutéinisante) (Richards, J.S. et S.A. Pangas, 2010). La FSH influence la maturation des follicules ovariens ainsi que la sécrétion d'œstrogènes par les cellules folliculaires. La LH intervient quant à elle dans le déclenchement de l'ovulation et la formation du corps jaune, structure endocrine responsable de la sécrétion de progestérone.

Sur le plan endocrinien, les ovaires sécrètent principalement des hormones stéroïdiennes, notamment les œstrogènes et la progestérone, qui régulent le cycle menstruel, la préparation de l'endomètre à la nidation et le maintien de la grossesse. Ces sécrétions sont sous le contrôle de l'axe hypothalamo-hypophyso-ovarien, impliquant un mécanisme de rétrocontrôle hormonal. (Richards, J.S. et S.A. Pangas, 2010)

2.2.7. Les testicules

Sont des gonades masculines paires situées dans le scrotum, en dehors de la cavité abdominale, ce qui permet le maintien d'une température inférieure à celle du corps, condition indispensable à la spermatogenèse. Ils assurent une double fonction, à la fois exocrine et

endocrine, essentielle à la reproduction masculine.

Sur le plan exocrine, les testicules sont le siège de la spermatogenèse, processus de production des spermatozoïdes au niveau des tubes séminifères. Cette fonction est soutenue par les cellules de Sertoli, qui assurent le soutien, la nutrition et la régulation du développement des cellules germinales.

Sur le plan endocrinien, les testicules sécrètent principalement des hormones stéroïdiennes, notamment la testostérone est produite les cellules de Leydig sous l'action de la LH (hormone lutéinisante) (Wagner et al., 2009). Elle a un rôle important dans le développement des caractères sexuels masculins, du maintien de la fonction reproductive, ainsi que de la stimulation de la spermatogenèse. Par ailleurs, les cellules de Sertoli produisent également l'inhibine, hormone impliquée dans le rétrocontrôle négatif de la FSH (hormone folliculo-stimulante), contribuant ainsi à la régulation fine de la fonction testiculaire.

Ainsi, les testicules jouent un rôle central dans la reproduction masculine en assurant à la fois la production des gamètes et la sécrétion hormonale.

3. Les composés perturbateurs du système endocrinien

3.1 Historique et définition

Depuis les dernières décennies du XXe siècle les composés chimiques susceptibles d'interagir avec le système endocrinien font l'objet d'une attention particulière au sein de la communauté scientifique, en raison de leurs effets potentiellement nocifs sur la santé des organismes. La prise de conscience de l'impact de ces substances, appelées « perturbateurs endocriniens », a par ailleurs entraîné une intensification significative des travaux de recherche dans ce domaine (Hotchkiss et al., 2008).

En milieu professionnel, les expositions sont généralement multiples et, dans certains cas, d'intensité plus élevée que celles observées en population générale (Frye et al., 2012). Plusieurs secteurs d'activité sont concernés, aussi bien au niveau de la production que de l'utilisation, notamment l'agriculture

3.2 Mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens

Les perturbateurs endocriniens (PE) sont des substances exogènes capables d'interférer avec le fonctionnement normal du système hormonal en perturbant la synthèse, la sécrétion, le transport, la liaison aux récepteurs ou l'élimination des hormones endogènes. Leur mode

d'action est varié et peut concerner plusieurs niveaux de régulation endocrinienne.(figure 10)

Un premier mécanisme repose sur le mimétisme hormonal : certains PE présentent une structure chimique proche de celle des hormones naturelles et peuvent se fixer aux récepteurs hormonaux, notamment aux récepteurs nucléaires, en imitant leur action biologique. À l'inverse, d'autres composés agissent comme antagonistes hormonaux, en se liant aux récepteurs sans les activer, bloquant ainsi l'action des hormones endogènes. (Waring et Harris, 2005).

Les PE peuvent également interférer avec la synthèse hormonale, en inhibant ou en stimulant les enzymes de la production des hormones stéroïdiennes ou thyroïdiennes. Ils peuvent aussi perturber le transport hormonal en modifiant l'expression ou l'affinité des protéines porteuses dans le sang.

Par ailleurs, certains perturbateurs endocriniens affectent le métabolisme et l'élimination des hormones, entraînant des variations anormales de leurs concentrations circulantes. Enfin, des effets plus complexes incluent des mécanismes épigénétiques, susceptibles de modifier l'expression génique sans altération de la séquence d'ADN, avec des conséquences potentiellement durables voire transgénérationnelles. (Zama 2009).

Ainsi, les perturbateurs endocriniens agissent selon des mécanismes multiples et complémentaires, pouvant entraîner des déséquilibres hormonaux significatifs et des effets dénocif sur la santé des organismes. (Tabb et Blumberg, 2006).

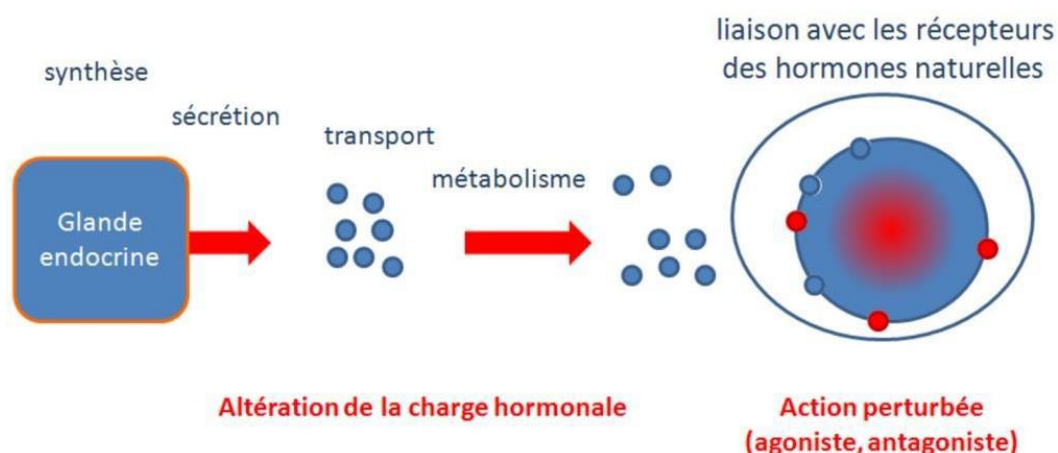


Figure 10. Représentation schématique des processus d'action des perturbateurs endocriniens d'après Chevrier (2011)

3.3 Répartition des perturbateurs endocriniens selon leur origine et leur nature

3.3.1 Les hormone d'origine naturelles

Les hormones naturelles sont des substances chimiques produites directement par les glandes endocrines de l'organisme et sécrétées dans la circulation sanguine afin de réguler de nombreuses fonctions physiologiques. Elles agissent comme des messagers chimiques endogènes, assurant la communication entre différents organes et contribuant au maintien de l'homéostasie.

Sur le plan biochimique, les hormones naturelles peuvent appartenir à différentes classes : les hormones peptidiques (comme l'insuline), les hormones stéroïdiennes (comme les œstrogènes, la progestérone et la testostérone) et les hormones dérivées d'acides aminés (comme les hormones thyroïdiennes). Chaque type possède des modes d'action spécifiques, soit via des récepteurs membranaires, soit via des récepteurs intracellulaires ou nucléaires.

3.3.2 Les hormones de synthèse

Sont des molécules produites artificiellement par l'homme, conçues pour imiter ou moduler l'action des hormones naturelles de l'organisme. Elles sont utilisées en thérapeutique afin de corriger des déséquilibres hormonaux, remplacer une fonction endocrine déficiente ou inhiber certaines activités hormonales. Elles peuvent agir sur différents systèmes physiologiques, notamment la reproduction, le métabolisme ou la croissance, en se fixant sur les mêmes récepteurs que les hormones endogènes.

3.3.3. Les substances chimiques polluantes produites par l'homme

Il s'agit de substances chimiques développées pour des usages industriels variés (pharmaceutique, cosmétique, agroalimentaire, phytosanitaire, pétrochimique, automobile ou encore plasturgie), en raison de leurs propriétés physico-chimiques spécifiques. Leur activité endocrinienne n'est pas, a priori, recherchée ni suspectée lors de leur conception (Anway et Skinner, 2008).

CHAPITRE 4 : LA MELATONINE

1. La Mélatonine

La mélatonine a été découverte en 1958 par le dermatologue américain Aaron B. Lerner et son équipe à l'université Yale.

Ils cherchaient à comprendre pourquoi certaines substances extraites de la glande pinéale (une petite glande située dans le cerveau) pouvaient influencer la pigmentation de la peau chez les amphibiens. En isolant et en testant ces extraits, ils ont identifié une molécule inconnue à l'époque, qu'ils ont appelée mélatonine (du grec melas = noir et tonos = tension), car elle éclaircissait la peau des grenouilles en agissant sur les mélanocytes. (Touitou , 2003). (figure 11). Par la suite, on a découvert que la mélatonine n'était pas une hormone de pigmentation chez l'humain, mais surtout une hormone du rythme biologique :

elle est produite principalement la nuit, elle régule le cycle veille-sommeil (rythme circadien), sa production est influencée par la lumière.

Aujourd'hui, elle est aussi utilisée comme complément pour certains troubles du sommeil ou du décalage horaire

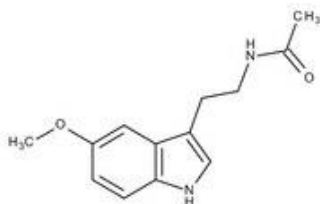


Figure 11 : Structure de la mélatonine

2. Synthèse de la Mélatonine

Elle est synthétisée chez les animaux à partir de l'acide aminé L-tryptophane. Plusieurs enzymes interviennent pour former, dans un premier temps, de la sérotonine (un neurotransmetteur) puis, dans un second temps, de la mélatonine (figure 12) (Singh et Jadhav, 2014).

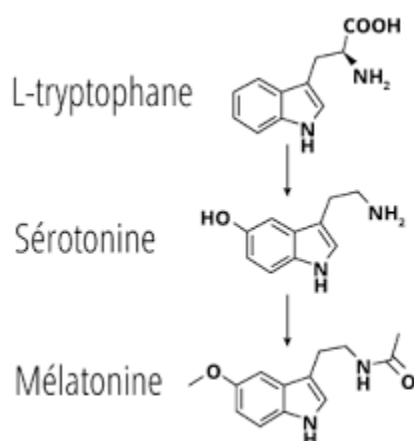


Figure 12 : Représentation schématique de la synthèse de la mélatonine

La mélatonine est synthétisée principalement dans la glande pinéale, à partir du tryptophane, un acide aminé essentiel. Ce processus débute par la transformation du tryptophane en sérotonine, un neurotransmetteur impliqué notamment dans la régulation de l'humeur. La sérotonine est ensuite convertie en N-acétyl-sérotonine grâce à l'action de l'enzyme AANAT, étape considérée comme limitante dans la synthèse. Enfin, la N-acétyl-sérotonine est transformée en mélatonine par l'enzyme ASMT.

Il existe trois principaux types de récepteurs membranaires de la mélatonine : MT1, MT2 et MT3. Les récepteurs MT1 et MT2 sont couplés aux protéines G et participent notamment à la régulation des rythmes circadiens. Le récepteur MT3, quant à lui, correspond à une quinone réductase impliquée dans les mécanismes de protection contre le stress oxydatif. Par ailleurs, il existerait également des récepteurs intracellulaires à la mélatonine, mais les connaissances à leur sujet restent encore limitées (Dubocovich et al., 2010).

Métabolisme de la mélatonine

La demi-vie de la mélatonine est très courte puisqu'elle n'est que de 30 min en moyenne. Sa biodisponibilité est faible et hétérogène suite à une administration orale de mélatonine à cause d'un fort premier passage hépatique (S. Royant-Parola, 2015).

La mélatonine circulante est essentiellement catabolisée au niveau du foie mais aussi dans le cerveau.

Au niveau du foie, la mélatonine va subir une hydroxylation majoritaire (80%) dans les hépatocytes en 6-hydroxymélatonine (enzyme à CYP450) dépourvue d'activité biologique par une 6-hydroxylase microsomale, suivie d'une élimination par le rein via une sulfoconjugaison

(70 à 80% du catabolisme total) via l'acide sulfurique ou une glucuroconjugaison (5% du catabolisme total) via l'acide glucuronique (S. Royant-Parola, 2015).

Le catabolisme hépatique est assuré de façon préférentielle par le Cyp1A2 qui métabolise aussi de nombreux médicaments ou substances naturelles (tel que le café par exemple), ce qui peut donc modifier la biodisponibilité. Toujours au niveau hépatique, il existe également des voies de désacétylation et de déméthylation. Après désacétylation, la mélatonine est transformée en 5-méthoxytryptamine, puis en acide 5-méthoxyindole acétique après oxydation. La mélatonine peut être déméthylée en N-acétylsérotonine qui peut se conjuguer avec l'acide glucuronique ou sulfurique dans le foie (S. Royant-Parola, 2015).

Les 20% restants du catabolisme total se font au niveau cérébral par oxydation. Il y a ouverture du noyau pyrrole de la mélatonine aboutissant à la formation de N-acétyl-5-méthoxykinurénamine passant par un intermédiaire N-formylé (Menard, 2011). L'élimination de la mélatonine se fait pour 70 % dans les urines et pour 20 % dans les fèces en 24 heures. La voie principale d'élimination est donc urinaire et va aboutir à la formation de divers métabolites présents dans les urines, parmi eux on retrouve la 6- hydroxymélatonine sous forme de sulfate (70-80 %) et de glucuronide (5 %) et les kynurénamines (15 %). D'autres formes d'élimination urinaires sont représentées par la mélatonine elle-même (1 %) et l'acide 5-méthoxyindole acétique (0,5 %). Le 6- sulfatoxymélatonine est le métabolite urinaire principal et il peut être dosé sur la première urine du matin. Il se révélera être un bon index de la sécrétion nocturne de la mélatonine (Menard, 2011 ; S. Royant-Parola S., 2015).

4. Mélatonine et thyroïde :

Elle est largement reconnue pour son rôle dans la régulation des rythmes circadiens. Toutefois, elle exerce également des effets importants sur le système endocrinien, en particulier sur l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien.

Plusieurs études expérimentales ont montré que la mélatonine est capable de moduler la sécrétion de TSH (thyroid-stimulating hormone) en influençant les noyaux hypothalamiques impliqués dans la libération de TRH (thyrotropin-releasing hormone). Elle pourrait ainsi agir indirectement sur la sécrétion des hormones thyroïdiennes T3 et T4 (Tan et al., 2015).

Sur le plan périphérique, la mélatonine agit comme un puissant antioxydant au niveau de la

glande thyroïde. Elle protège les cellules folliculaires contre les dommages induits par le stress oxydatif, en réduisant la peroxydation lipidique et en stimulant l'activité d'enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase (SOD) et la glutathion peroxydase (GPx) (Reiter et al., 2016).

Chez l'animal, la mélatonine a montré une capacité à prévenir la dysfonction thyroïdienne induite par des toxiques environnementaux, comme le plomb ou les hydrocarbures. Khan et al. (2019) ont rapporté que la mélatonine administrée à des rats intoxiqués par l'acétate de plomb permettait de normaliser les taux sériques de T3 et T4, tout en réduisant les lésions histopathologiques thyroïdiennes.

Ainsi, les données actuelles suggèrent que la mélatonine joue un rôle protecteur à la fois central et périphérique sur la glande thyroïde, en contribuant à la régulation hormonale et en protégeant les tissus thyroïdiens contre les agressions oxydatives.

5. Mélatonine et stress oxydatif

L'action la plus connue de la mélatonine concerne la régulation des rythmes biologiques, aussi bien à l'échelle saisonnière qu'à l'échelle quotidienne via le rythme circadien. Néanmoins, cette hormone ne se limite pas à ce rôle chronobiologique : elle intervient également dans la régulation du sommeil, la synchronisation de certaines fonctions endocriniennes et possède des propriétés antioxydantes contribuant à la protection des cellules contre le stress oxydatif. Néanmoins d'autres rôles sont attribués à la mélatonine : des rôles antimitotique et antioxydant, des rôles sur le système immunitaire, sur la dépression, sur le sommeil et sur le système cardio-vasculaire (Devavry, 2001).

La mélatonine possédait une action protectrice contre les radicaux libres, supérieure aux autres antioxydants connus (mannitol, glutathion, vitamine E, vitamine C). Grâce à sa capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique, la mélatonine exercerait son action au niveau des cellules neuronales et gliales, en diminuant l'oxydation de lipides ou en s'opposant à la cassure des chaînes des macromolécules (Menard, 2011).

En plus de ces propriétés protectrices, la mélatonine pourrait participer à la réparation de l'ADN endommagé, mais aussi à l'inhibition de la prolifération des cellules tumorales et des métastases et à l'augmentation de l'apoptose des cellules cancéreuses.

Ces actions antiprolifératives, proapoptotiques et anti-métastase, permettent d'attribuer à la mélatonine des effets limitant l'initiation des tumeurs cellulaires et par conséquent la fréquence survenue apparition des cancers (Devavry, 2001). La mélatonine est également un antioxydant puissant et peut être utilisée pour prévenir le stress oxydatif et elle avoir un effet protecteur contre les dommages cellulaires et les radicaux libres.

La mélatonine est présente à la fois dans le monde végétal et chez les animaux (Acosta *et al.*, 2022).

Cependant, les doses ingérées de mélatonine sont insuffisantes pour produire un effet significatif chez l'Homme. Ses activités anti-inflammatoires, antioxydantes et anticancéreuses ont été identifiées dans de nombreuses recherches (Eghbalet *al.*, 2016 ; Faveroet *al.*, 2018). La MLT protège contre la toxicité de nombreux agents environnementaux et variables chimiques car elle possède des propriétés antioxydantes et préventives (Asghariet *al.* 2017 ; Królet *al.*, 2018 ; Upadhyayaet *al.*, 2018). La mélatonine augmente les enzymes, antioxydantes comme la catalase, la glutathion peroxydase et la superoxyde dismutase chez les rats (Magierowskiet *al.*, 2013 ; Manchester *et al.*, 2015 ; Reiter *et al.*, 2016).

PARTIE PRATIQUE

Chapitre 5 : Matériels et Méthodes

1. Les produits chimiques

-l'essence plombée
- la mélatonine *Sigma Chemical Co* (St Louis, France).
-Glutathion (GSH), 5,5-dithiobis-2 nitro acide ;
- Le DTNB (acide 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoïque), le nitrobleu tétrazolium (NBT), ainsi que les autres produits chimiques utilisés lors de l'expérimentation ont été achetés auprès de la société Sigma (Saint-Louis, États-Unis).

2. Traitement des rats

2.1. Description du modèle animal et des conditions d'élevage

Au cours de notre étude, vingt rats mâles albinos de souche Wistar ont été utilisés. Ils ont été fournis de la part de l'institut Pasteur d'Alger, âgés de sept semaines et présentant un poids moyen de 220 ± 20 g. Les rats ont été maintenus dans l'animalerie du département de Biologie de l'Université Badji Mokhtar d'Annaba.

Les animaux étaient hébergés dans des cages en polyéthylène contenant une litière constituée de copeaux de bois. Un nettoyage régulier des cages était effectué, avec un renouvellement de la litière un jour sur deux jusqu'à la fin de l'expérimentation.

les animaux recevaient un aliment concentré énergétiquement équilibré (ONAB, Béjaïa), dont la composition figure en annexe (Annexe 1). L'eau de boisson était disponible ad libitum et changée chaque jour.

Les animaux ont bénéficié d'une période d'acclimatation d'un mois aux conditions expérimentales, caractérisées par une température de 22 ± 2 °C et un photopériodisme de 12 h lumière / 12 h obscurité.

3. Dispositif expérimental

3.1 Répartition et prise en charge expérimentale des rats

L'étude a comporté quatre groupes expérimentaux, chacun constitué de cinq rats :

Lot 1 (témoins) : les rats ont reçu quotidiennement, par voie intrapéritonéale, 1 ml d'eau de boisson. Ce traitement a été maintenu pendant 90 jours.

Lot 2 : les rats ont été exposés aux vapeurs d'essence pendant 1 heure par jour, sur une durée de 12 semaines.

Lot 3 : les rats ont reçu une injection intrapéritonéale quotidienne de mélatonine à la dose de 10 mg/kg de poids corporel, administrée à 9 h du matin pendant 90 jours (Olukole et al., 2018).

Lot 4 : les rats ont été traités quotidiennement par injection intrapéritonéale de mélatonine (10 mg/kg de poids corporel) pendant 90 jours, en association avec une exposition aux vapeurs d'essence.

La dose de mélatonine (10 mg/kg de poids corporel) utilisée dans cette étude a été choisie comme dose efficace permettant une protection élevée contre diverses situations de stress dans plusieurs tissus (Olukole et al., 2018). Par ailleurs, la durée d'exposition aux vapeurs d'essence a été déterminée sur la base des travaux de Uboh et al. (2005).

3.2 Mode d'exposition des rats :

L'essence commerciale algérienne au plomb RON 90 a été achetée dans une station-service et stockée dans une bouteille en verre hermétiquement fermée et préalablement nettoyée. Elle comprenait divers hydrocarbures de différentes structures (paraffiniques, oléfiniques, naphténiques, aromatiques ~ 4 % de benzène et des métaux lourds).

Les rats ont été exposés aux vapeurs d'essence dans une chambre d'exposition en plexiglas mesurant 80 x 60 x 90 cm.

La chambre comportait un trou sur le dessus (10 cm de diamètre) et deux sur les côtés (5 cm de diamètre), à l'exception de la partie inférieure. Au fond de la chambre se trouvait un bécher calibré de 1000 ml contenant 500 ml d'essence plombée. Selon Uboh et al. (2005), le bécher a été introduit une heure avant l'exposition pour s'assurer que la chambre était saturée de vapeurs d'essence. Pendant 12 semaines consécutives, l'exposition à l'essence a été maintenue pendant 1 heure par jour. Pendant la période d'exposition, le volume quotidien moyen d'essence qui s'est évaporé librement était d'environ $12,5 \pm 3,9$ cm³.

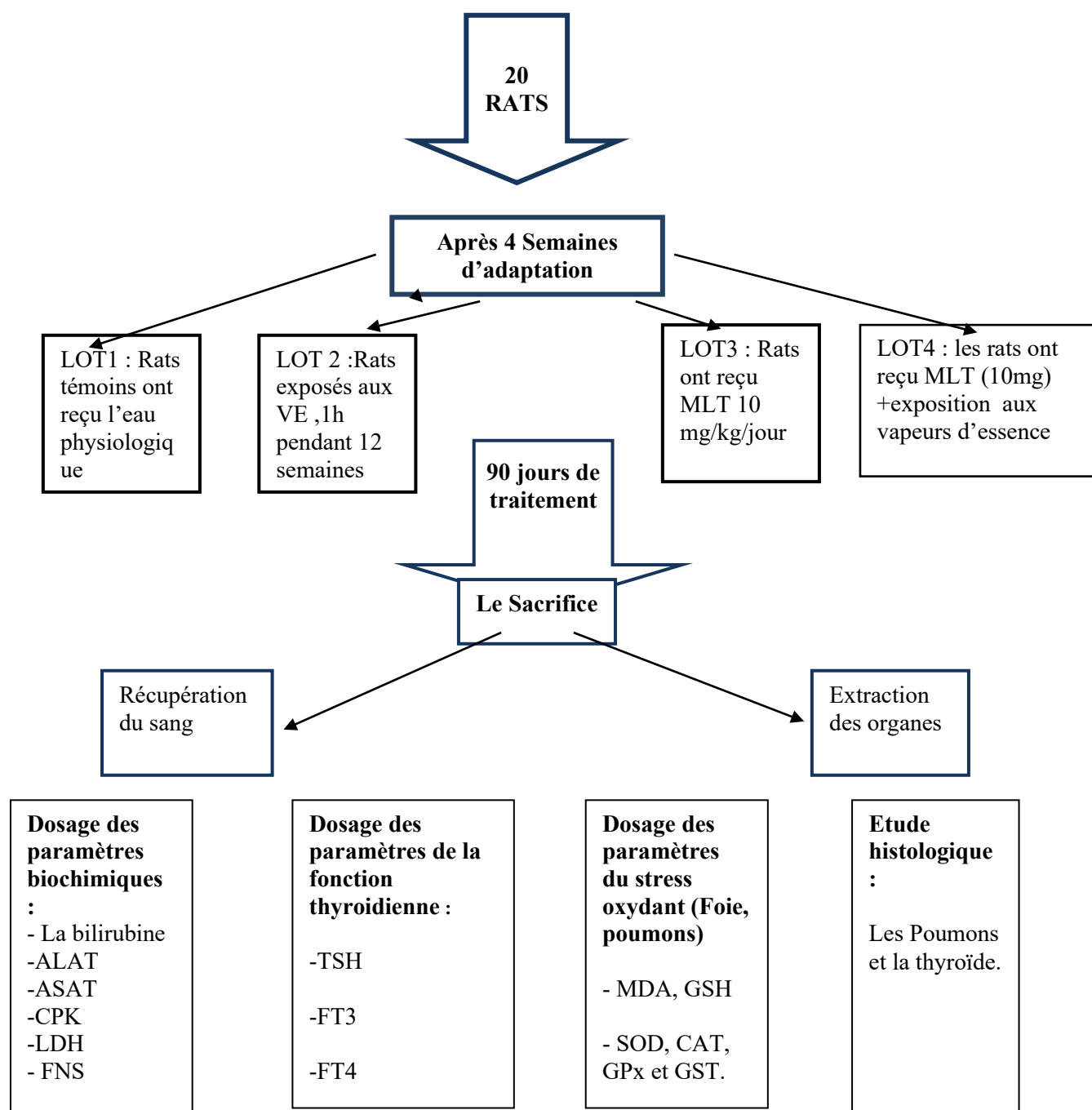


Figure13. Schéma représentatrice du protocole expérimental.

4. Procédure de sacrifice des animaux

Une fois la période de traitement de trois mois s'est achevée, les animaux ont été soumis à un jeûne nocturne. Le poids des rats a été enregistré après le dernier jour du traitement, juste avant le sacrifice.

4.1 Prélèvement d'échantillons sanguins

Le prélèvement sanguin a été immédiatement réparti en 2 lots. Le premier, un tube sec dépourvu d'anticoagulant, a été soumis à une centrifugation à 2500 g pendant 15 minutes. Le sérum ainsi obtenu a ensuite été conservé à -20°C jusqu'à l'analyse des paramètres biochimiques. Le second tube, contenant de l'EDTA comme anticoagulant pour réaliser l'FNS

4.2 Prélèvement des organes

Après réalisation de la dissection le foie, les poumons et la thyroïde ont été soigneusement prélevés, rincés avec une solution de Na Cl à 0,9 %, puis pesés. Ils ont ensuite été conservés selon deux modalités.

Une partie du foie et des poumons ont été prélevés en vue de l'évaluation des paramètres du stress oxydatif.

Une autre partie de la thyroïde et les poumons ont été conservés dans une solution de formol à 10 % pour l'obtention de coupes histologiques.

5. Détermination des paramètres biochimiques

Le dosage des paramètres biochimiques a été réalisé par méthode spectrophotométrique à l'aide de réactifs commerciaux prêts à l'emploi. (coffrets Spinreact utilisés pour le dosage des paramètres :CPK, , Lactate Déshydrogénase (LDH) ,Bilirubine ,ASAT ,ALAT suivant les recommandations et protocoles des kits de dosage (Spinreact, SA, Espagne).

6. Évaluation des paramètres hématologiques par la formule de numération sanguine (FNS)

La formule de numération sanguine (FNS) a été réalisée à l'aide d'un analyseur automatique d'hématologie (Erma Coulter Inc., modèle PCE-210N). Les différents paramètres hématologiques mesurés comprenaient les globules rouges (GR), les globules blancs (GB),

l'hémoglobine (Hb) et l'hématocrite (Ht), ainsi que la formule leucocytaire, incluant les lymphocytes (LY) et les monocytes (MO). Les indices érythrocytaires, notamment le volume globulaire moyen (VGM) et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH), ont également été déterminés.

7. Dosage hormonal thyroïdien

L'évaluation de la triiodothyronine libre FT3, de la thyroxine libre FT4 et de la thyroïdostimuline (TSH) a été réalisée à l'aide du système automatisé VIDAS® (bioMérieux). Le dosage repose sur un test immuno-enzymatique quantitatif de type compétitif, associé à une détection finale par fluorescence (Enzyme Linked Fluorescent Assay, ELFA).

8. Analyse des marqueurs du stress oxydatif

8.1. Obtention des homogénats tissulaires

Un gramme de foie et de poumons des rats a été prélevé puis homogénéisé après broyage. Les tissus ont été suspendus dans deux mL de tampon phosphate (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7,5) selon un rapport poids/volume de 1 :2. La suspension obtenue a ensuite été centrifugée à 9000 g pendant quinze minutes à quatre °C. Le surnageant récupéré a été fractionné dans des tubes Eppendorf, puis conservé à -20 °C jusqu'au dosage des paramètres du stress oxydatif.

8.2 Détermination de la teneur en protéines

Réaliser par la méthode de Bradford, repose sur la formation d'un complexe coloré entre le réactif et les protéines. L'intensité de la coloration bleue obtenue, mesurée à 595 nm, est directement liée à la teneur en protéines de l'échantillon.

Principe

La méthode de Bradford est une technique colorimétrique de dosage des protéines basée sur la fixation du colorant Coomassie Brilliant Blue G-250 aux protéines en milieu acide. Cette interaction entraîne un changement de couleur du réactif, passant du brun-rouge au bleu.

La mesure de l'absorbance à 595 nm permet d'évaluer une intensité colorée proportionnelle à la concentration protéique de l'échantillon. La quantification est réalisée par comparaison à

une courbe d'étalonnage obtenue à partir de concentrations connues d'un standard protéique, généralement l'albumine sérique bovine (BSA).

Mode opératoire du dosage des protéines (méthode de Bradford)

Un volume de 0,1 mL d'homogénat a été prélevé puis transféré dans un tube de micro-centrifugation. Ensuite, 5 mL de réactif de Bradford ont été ajoutés à l'échantillon. Le mélange a été homogénéisé par agitation douce, puis laissé au repos pendant 5 minutes afin de permettre la stabilisation de la coloration.

8.3 Dosage du glutathion (GSH)

Principe :

Le dosage du glutathion réduit a été réalisé selon la méthode de Jollow et al. (1974). Une quantité définie d'homogénat tissulaire a été mélangée à une solution d'acide sulfosalicylique afin de précipiter les protéines. Après agitation et incubation à froid, le mélange a été centrifugé afin de récupérer le surnageant contenant le GSH.

Mode opératoire du dosage du glutathion réduit (GSH)

Le dosage du glutathion réduit (GSH) a été réalisé selon le protocole expérimental suivant :

Un volume de 0,8 mL d'homogénat a été prélevé, auquel 0,2 mL de solution d'acide sulfosalicylique (0,25 %) a été ajouté. Le mélange a été agité puis incubé pendant 15 minutes dans un bain de glace afin de permettre la déprotéinisation. La suspension a ensuite été centrifugée à 9000 g pendant 5 minutes.

Par la suite, 0,5 mL du surnageant a été récupéré et mélangé à 1 mL de tampon Tris-EDTA (0,02 M d'EDTA, pH 9,6). Après homogénéisation, 0,025 mL de réactif de DTNB (acide 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoïque) à 0,01 M a été ajouté au mélange.

La solution a été laissée à température ambiante pendant 5 minutes, puis l'absorbance a été mesurée à 412 nm contre un blanc réactif

Calcul de la concentration

La concentration en glutathion réduit (GSH) a été déterminée à partir de la formule appropriée ou par comparaison à une courbe d'étalonnage.

$$\text{GSH } (\mu\text{mol/mgprotéines}) = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1.525}{13.100 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mgprotéines}}$$

0,5 : volume de surnageant utilisé dans le dosage final (1,525 mL).

0,8 : volume d'homogénat après déprotéinisation.

1 : v total du mélange de déprotéinisation (0,8 mL d'homogénat + 0,2 mL d'acide sulfosalicylique).

DO : absorbance (densité optique)

13,100 : coefficient d'extinction molaire du groupement thiol (-SH) à 412 nm.

1,525 : volume total du mélange réactionnel utilisé pour le dosage du GSH dans le surnageant (0,5 mL de surnageant, 1 mL de Tris et 0,025 mL de DTNB).

8.4 Évaluation de la peroxydation lipidique par dosage du malondialdéhyde (MDA)

Principe

L'évaluation de la concentration du malondialdéhyde (MDA), marqueur de la peroxydation lipidique, repose sur sa capacité à réagir avec l'acide thiobarbiturique (TBA) en milieu acide et à haute température. Cette réaction conduit à la formation d'un complexe coloré rose appelé substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS). L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en MDA présent dans l'échantillon et est mesurée par spectrophotométrie, généralement à 532 nm.

Mode opératoire ;

Un volume de 375 μL d'homogénat a été prélevé, auquel 150 μL de tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4) ont été ajoutés, ainsi que 375 μL de solution TCA (20 %) contenant du BHT (1 %). Après homogénéisation, la suspension a été centrifugée à 9000 g pendant 10 minutes à 4 °C.

Par la suite, 80 µL d'acide chlorhydrique (HCl) ont été ajoutés au surnageant obtenu, suivis de l'introduction de 320 µL de réactif Tris–TBA (Tris 26 mM, TBA 120 mM). Le mélange a ensuite été homogénéisé puis incubé au bain-marie à 80 °C pendant 10 minutes.

Enfin, les absorbances ont été mesurées à 530 nm contre un blanc réactif.

Calcul de la concentration du MDA :

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/mgprotéines}) = \frac{\text{DO} \times 106}{\text{E} * \text{X} * \text{L} * \text{Fd}}$$

DO : densité optique mesurée à 530 nm.

E : coefficient d'extinction molaire du MDA ($1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$).

L : longueur trajet optique (0,779 cm).

X : concentration protéique de l'extrait (mg/mL).

Fd : facteur dilution (Fd = 0,2083).

C : concentration exprimée en nmol/mg de protéines.

8.5. Évaluation de l'activité de la catalase (CAT)

Principe

L'activité de la catalase (CAT) est évaluée en mesurant sa capacité à dégrader le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), substrat spécifique de l'enzyme. La catalase catalyse la dismutation du H_2O_2 en eau et en oxygène. Le principe du dosage repose sur le suivi de la diminution de la concentration en H_2O_2 , généralement par spectrophotométrie, en mesurant la décroissance de l'absorbance à 240 nm au cours du temps. La vitesse de décomposition du H_2O_2 est proportionnelle à l'activité enzymatique de la catalase présente dans l'échantillon.

Mode opératoire :

le volume de surnageant est ajusté en fonction de la concentration protéique, qui doit être comprise entre 1 et 1,5 mg/mL, correspondant à 10 à 20 µL de surnageant dilué. L'absorbance est mesurée à 240 nm, après un délai de 15 secondes, sur une durée de 60 secondes.

Calcul de l'activité enzymatique :

$$\text{Catalase } (\mu\text{molH}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mgproteins}) = \frac{\Delta\text{DO}/\text{min}}{\epsilon \times L \times X \times Fd}$$

8.6. Détermination de l'activité du superoxyde dismutase (SOD)

Principe

Elle est déterminée en fonction de sa capacité à catalyser la dismutation de l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et en oxygène moléculaire (O_2). Le principe du dosage repose sur l'inhibition de la réduction d'un substrat détectable (généralement un composé chromogène) par les radicaux superoxyde générés dans le système réactionnel. L'intensité de la réaction colorimétrique ou spectrophotométrique est inversement proportionnelle à l'activité de la SOD présente dans l'échantillon.

Calcul de l'activité enzymatique :

$$Y = \frac{\text{DOB}-\text{DOE}}{\text{DOB}} \times 100 \times \frac{20}{\text{mgproteine}} \times \text{facteur ded ilution}$$

8.7. Evaluation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase

Principe :

Elle est évaluée sur sa capacité à catalyser la réduction du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou des hydroperoxydes organiques en eau ou en alcools correspondants, en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur. Au cours de cette réaction, le GSH est oxydé en glutathion disulfure (GSSG). Dans les méthodes couplées, le GSSG formé est ensuite réduit en GSH par la glutathion réductase en présence de NADPH, dont l'oxydation en NADP^+ est suivie par spectrophotométrie, généralement à 340 nm. La diminution de l'absorbance est proportionnelle à l'activité enzymatique de la GPx.

Mode opératoire

Un volume de 0,2 mL d'homogénat (surnageant) a été prélevé, auquel 0,4 mL de glutathion réduit (GSH, 0,1 mM) et 0,2 mL de tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4) ont été ajoutés. Le mélange a été incubé au bain-marie à 25 °C pendant 5 minutes.

La réaction a ensuite été initiée par l'ajout de 0,2 mL de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂, 1,3 mM) et laissée en incubation pendant 1 minute. Elle a été arrêtée par addition de 1 mL d'acide trichloroacétique (TCA, 1 %).

Le mélange a été maintenu dans la glace pendant 30 minutes, puis centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 minutes. Par la suite, 0,48 mL du surnageant a été prélevé et complété par 2,2 mL de tampon TBS.

Calcul de l'activité enzymatique :

L'activité enzymatique du GPx est exprimée en nmol de GSH oxydé par milligramme de protéines (nmol GSH/mg prot) selon l'équation

$$\text{GPx } (\mu\text{mol/mgprot.}) = \frac{(\text{DO échantillon} - \text{DO étalon}) \times 0,04}{\text{DO étalon}} + \frac{5}{\text{mg prot.}}$$

DO : la Densité optique lue à 412 nm.

0.04 : la Concentration de substrat (GSH).

9. l'analyse de l'essence

L'analyse élémentaire de l'essence a été réalisée en utilisant deux méthodes complémentaires. Pour le dosage du mercure (Hg), nous avons recours à la spectrométrie d'absorption atomique sans flamme, technique de référence pour la détection du mercure à très faible concentration grâce à la génération d'atomes à l'état de vapeur froide.

Pour les autres métaux étudiés (Ni, Cd, Pb et Cr), l'analyse a été effectuée par spectrométrie d'émission atomique avec plasma à couplage inductif (ICP-AES), qui offre une grande sensibilité et la possibilité de mesurer simultanément plusieurs éléments traces.

Cette approche analytique combinée a permis de caractériser précisément la composition métallique de l'essence testée et d'établir un lien direct avec les altérations tissulaires et métaboliques observées chez les animaux exposés.

9.1 Analyse du mercure (Hg) : Spectrométrie d'absorption atomique sans flamme

Pour le dosage du mercure, nous avons utilisé la spectrométrie d'absorption atomique sans flamme (généralement avec un système de vaporisation à froid ou génération d'hydrures). (Skoog et al.2014)

Principe :

Le mercure est réduit chimiquement en Hg^0 , puis atomisé à température ambiante et quantifié par l'absorption de lumière à une longueur d'onde spécifique (souvent 253,7 nm).

Avantage

Cette méthode est extrêmement sensible et adaptée à la détection de très faibles concentrations de mercure, sans nécessiter de flamme ou de four graphite.

9. 2. Analyse du nickel (Ni), du cadmium (Cd), du plomb (Pb) et du chrome (Cr) : Spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-AES)

Les autres métaux ont été analysés par ICP-AES (InductivelyCoupled Plasma – Atomic Emission Spectrometry), également appelée spectrométrie d'émission atomique avec plasma couplé par induction.

Principe

L'échantillon est nébulisé et introduit dans un plasma d'argon à très haute température (~6000–8000 K). Les atomes excités émettent de la lumière à des longueurs d'onde spécifiques pour chaque élément. L'intensité lumineuse émise est proportionnelle à la concentration de l'élément.

Avantage

Cette méthode permet la détection simultanée et très sensible de nombreux métaux traces, comme le Ni, Cd, Pb et Cr, même à des concentrations inférieures au mg/L.

10. Étude histologique

Les organes prélevés (la thyroïde et les poumons), ont été fixés dans une solution de formol à (10 %). Les analyses histologiques ont ensuite été réalisées au sein du laboratoire d'anatomie pathologique (NIHA) d'Annaba. La préparation des coupes a été effectuée selon la méthode décrite par Hould (1984).

- Fixation : cette étape vise à préserver l'intégrité des structures tissulaires. Elle est réalisée par immersion des échantillons, préalablement découpés, dans une solution de formol.

- Déshydratation : cette phase consiste à éliminer progressivement l'eau contenue dans les tissus, en la remplaçant par un solvant organique. Elle débute par des bains successifs d'éthanol à concentrations croissantes (70 %, 95 %, puis 100 %) suivis d'une substitution par le toluène, lequel est ensuite remplacé par la paraffine.

- L'inclusion des tissus en paraffine : constitue une étape essentielle permettant l'obtention de coupes histologiques fines et homogènes. Les échantillons sont préalablement intégrés dans des blocs de paraffine solide, assurant leur maintien et leur stabilité

Les blocs sont ensuite coupés à l'aide d'un microtome, permettant la réalisation de sections fines d'une épaisseur de deux à cinq μm .

Pour le Déparaffinage il consiste à éliminer l'excès. les lames sont placées sur une plaque chauffante 60°C pendant 15 minutes, afin d'obtenir la liquéfaction .

- Réhydratation : en immergeant les lames dans des bains d'alcool de degrés décroissant (de l'alcool à 100° jusqu'à l'alcool 50°), puis dans l'eau distillée.

- Coloration utilisant un mélange de deux colorants, l'hématoxyline et l'éosine (HE).

Pour la coloration, nous avons employé la méthode à l'Hématoxyline-Eosine (aussi dénommée Hématoéine-Eosine), qui requiert l'utilisation de l'alcool acide (100 ml d'alcool éthylique à 70% + 50 ml d'acide HCl), de l'eau ammoniacale (100 ml d'eau distillée + 2 ml d'ammoniaque) et de la solution d'Eosine.

- Le processus de coloration se réalise comme suit : retire l'excès de la paraffine et hydrater les lames à l'eau du robinet, puis rincez-les à l'eau distillée. Plongé dans un bain d'Hématoxyline de Harris pour 15 minutes, ce dernier colore les structures basophiles (noyaux) en bleu violacé.

- Effectuer des coupes dans l'alcool acide - Puis, placer les lames dans un volume d'eau.

- Procéder à l'étape de bleuissement, en plaçant les échantillons dans une solution d'eau ammoniacale.
- Réaliser la coloration en immergeant les échantillons dans un bain d'éosine pendant une durée comprise entre 15 secondes et 2 minutes, permettant ainsi de teinter en rose les structures acidophiles, notamment le cytoplasme.
- Chaque bain est entrecoupé de lavages à l'eau du robinet.
- Analyse microscopique à l'aide d'un microscope optique équipé d'un dispositif photographique.

11. Etude statistique

Dans le cadre de l'étude *in vitro*, les données sont exprimées sous forme de moyenne issue de trois répétitions indépendantes (triplicats), accompagnée de l'erreur standard de la moyenne ($M \pm SEM$). Les résultats sont ainsi présentés en moyenne $\pm$ erreur standard.

Concernant La moyenne (M) est calculée selon la formule $M = \Sigma x / n$, où x correspond aux valeurs du paramètre mesuré et n au nombre total d'observations. L'erreur standard de la moyenne (SEM) est dérivée de l'écart-type. Pour la comparaison entre les différents lots expérimentaux est réalisée avec une analyse de variance (ANOVA), suivie d'un test Tukey pour les comparaisons multiples en utilisant le logiciel GraphPad Prism 8 (version 8.3.0, GraphPad Software, California, USA). Les différences sont considérées comme statistiquement significatives pour une valeur de $p < 0,05$ (*) et hautement significatives pour $p < 0,01$ (**).

Chapitre 6 : Résultats

Caractérisation de l'essence en éléments traces métalliques

L'analyse élémentaire de l'essence par spectrométrie d'absorption atomique sans flamme (Hg) et par ICP-AES (Ni, Cd, Pb, Cr) a mis en évidence une contamination métallique marquée (Tableau N° 3.) Les résultats montrent une absence significative de mercure ($< 0,05$ mg/kg), mais révèlent des concentrations importantes de cadmium (1,78 mg/kg), de plomb (26.9 mg/kg), de nickel (3,70 mg/kg) et de chrome (2,51 mg/kg).

Tableau 3 : caractérisations de l'essence en éléments traces métalliques

Essai (métaux)	Essence (mg/ Kg)
Mercure	0.05 ± 0.004
Cadmium	$1.78 \pm 0.21^*$
Plomb	$26.9 \pm 5.15^{**}$
Nickel	$3.70 \pm 0.56^*$
Chrome	$2.51 \pm 0.73^*$

Les concentrations sont exprimées en moyenne $\pm$ SEM. $n = 3$ répétitions pour chaque métal $^*p < 0.05$ and $^{**}p < 0.01$ vs mercure and $p < 0.05$ vs. Plomb

1 Effets de l'exposition aux vapeurs d'essence sur les paramètres physiologiques, biochimiques, hématologiques : Evaluation du potentiel protecteur de la mélatonine

1.1. Effet des vapeurs d'essence sur l'état physiologiques des rats

Au cours de notre expérimentation, aucune mortalité n'a été enregistrées dans l'ensemble des groupes étudiés. Toutefois, une diminution de l'appétit accompagnée d'un gain de poids progressive a été observée chez certaines rats exposés. Ceci suggère une réponse physiologique adaptative au stress et/ou à une toxicité modérée induite par l'exposition aux vapeurs d'essence.

1.2. Analyse de profil pondéral général et des organes

1.2.1. Poids corporel

Au cours de la période de traitement, les animaux ont été pesés un jour sur deux afin de limiter le stress lié aux manipulations répétées. Cette approche a permis de suivre et de déterminer l'évolution pondérale des différents groupes expérimentaux

Les résultats des mesures du poids corporel, sont présentés sous forme de moyenne accompagnée de l'écart-type (moyenne $\pm$ écart-type). Ils sont présentés au niveau du tableau 4. Les résultats montrent que de l'exposition des rats aux vapeurs d'essence a induit une variation du poids des animaux après 90 jours de traitement. Le poids corporel final a augmenté progressivement de manière significative ($P < 0,05$) tout au long de l'étude chez les rats exposés aux vapeurs d'essence (+3.4%), chez les lots exposés à la mélatonine seulement (1,54 %) respectivement.

2.1.1. Poids absolus et relatif des organes : le foie, les poumons et la thyroïde .

Concernant le poids absolu du foie, une augmentation a été observée chez les groupes exposés aux vapeurs d'essence d'une façon significative ($P < 0,05$) (6%). En revanche une diminution non significative a été signalée chez le groupe MLT + VE .

En ce qui concerne les poumons, une augmentation significative ($P < 0,05$) du poids absolu est observée chez les groupes traités par les vapeurs d'essence (VE) avec une hausse de 17.27%. Tandis que les groupes VE et VE+ MLT présentent une augmentation non significative. Enfin, le poids absolu de la thyroïde montre une augmentation significative ($P < 0,05$) dans les groupes exposés aux vapeurs d'essence VE, avec une hausse de 35% par rapport au groupe témoin.

En revanche le groupe traité par la mélatonine (MLT) ne présente aucune variation notable indiquant un effet stabilisateur de ce composé.

Le groupe VE+MLT montre une augmentation modérée de 18%, suggérant que la mélatonine atténue partiellement les effets de l'exposition aux vapeurs d'essence.

Tableau 4. Evolution du poids corporel et des poids absolus et relatifs du foie, des poumons et de la thyroïde chez les lots témoins et traités après 90 jours de traitement.

Paramètres	Témoin	VE	MLT	VE+MLT
Poids initial (g)	223 ± 18 ,8	222,33±19 ,66	221 ,15±5,12	222,22±6,1
Poids final (g)	291,21±4,2	301.10±4.6*	295.7±4.2	296±4.1
Poids absolue foie	7,66±0 ,21.	8, 12± 0,23*	7,63± 0,23	7,89±0,24 [#]
Poids relatif foie	2.63± 0.07	2.70± 0.08	2.58± 0/07	2.66± 0.08
Poids absolue poumon (g)	5,21±0.23	6.11±0.25*	5.66±0.24	5.88±0.26 [#]
Poids relatif poumon (g)	1.79± 0.08	2.30± 0.08**	1.91± 0.07	1.99± 0.09
Poids absolue thyroïde (g)	0.05±0.01	0,07±0.02*	0 ,05±0.01	0,06±0.01
Poids relatif thyroïde (g)	0.02± 0.004	0.02± 0.006	0.02± 0.003	0.02 ±0.003

Les valeurs sont exprimées en forme de moyenne ± SEM

**P <0,01 ; *P<0,05 : Différence significative des lots MLT, VE par rapport aux témoins

[#]P < 0,05 : Différence significative MLT+VE vs traité par le VE

1.3. Impact du traitement sur les paramètres biochimiques, hématologiques et endocriniennes

Les résultats obtenus sur le dosage sérique des paramètres biochimiques sont présentés dans les tableaux, 5, 6 et 7. Ils mettent en évidence des perturbations métaboliques importantes.

1.3.1 Évaluation de la fonction hépatique à travers le dosage de la bilirubine totale et des transaminases :

Les paramètres enzymatiques liés au métabolisme hépatique, mesurés chez les rats témoins et traités, sont présentés dans le tableau 5.

Une augmentation significative ($P < 0,05$) de la bilirubine a été observé chez le groupe VE avec une hausse d'environ 176% par rapport au groupe témoin,

Les enzymes hépatiques ont également montré une augmentation significative ($P < 0,05$) .

L'ASAT a augmenté de 58.2 % chez le lot (VE) par rapport au groupe témoin, cependant l'ALAT a enregistré une hausse de 25.6 %.

En revanche, le groupe des rats exposés aux vapeurs d'essence et traités à la mélatonine (VE + MLT) montre une réduction des paramètres par rapport au groupe exposé seulement aux vapeurs d'essence (VE), avec une diminution modérée de la bilirubine (22.9%), de l'ASAT (26.3 %) et de l'ALAT (8.29%) respectivement. Ces différences sont significatives par rapport au groupe (VE) ($P < 0,05$) ,traduisant une atténuation des effets toxiques des vapeurs de l'essence par la mélatonine.

Tableau 5 : Évaluation des biomarqueurs plasmatiques de la fonction hépatique après 90 jours de traitement chez les rats témoins et traités

Paramètres	Témoin	VE	MLT	VE + MLT
Bilirubine (mg/l)	0,83±0,43	2.32±1,3*	0,82±0,35	1.02±0,44 [#]
ASAT (UI/l)	124,4±42,1	198.1.±34,5*	126,88±13,70	157.2±32 [#]
ALAT (UI/l)	46,8±5	58,8±7,20 *	47,44±3,16	50,68±3,76 [#]

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± erreur standard de la moyenne (SEM) pour un effectif de cinq rats

(* $P < 0,05$) indique une différence significative par rapport aux rats témoins, tandis que ([#] $P < 0,05$) révèlent une différence significative par rapport aux rats exposés aux vapeurs d'essence.

1.3.2 Impacts de l'exposition aux vapeurs d'essence sur les paramètres tissulaire et cardiaque : CPK et LDH

Les résultats ont révélé que l'exposition des rats aux vapeurs d'essence (VE) entraînait une augmentation significative ($P < 0,05$) des concentrations sériques de LDH (25%) et de CPK (44%) par rapport au groupe témoin.

Toutefois, l'administration de mélatonine aux rats exposés aux vapeurs d'essence (VE+MLT) a montré une nette amélioration de la concentration de LDH et de CPK, révélée par une réduction significative ($P < 0,05$) de leurs activités en comparaison des rats exposés aux vapeurs d'essence (VE). (Tableau 6)

Tableau 6 : Variation des paramètres enzymatique (LDH et CPK) après 90 jours de traitement

PRAMETRES	Témoin	VE	MLT	VE+MLT
LDH (IU/L)	630,4± 69,97	788 ± 90,7*	610 71,8	628, ± 71,8 [#]
CPK (IU/L)	3462,18 ± 344,3	4987 ± 966,6 *	3452± 341	3447,5± 76,85 [#]

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne ± SEM (n = 5 animaux)

(* $P < 0.05$,) comparativement aux rats témoins ;

(# $P < 0.05$) comparativement aux rats traités par l'essence

1.3.3 impacts des vapeurs d'essence sur les paramètres hématologiques

Les résultats des analyses hématologiques à la suite de l'analyse de la formule de numération sanguine FNS sont représentés dans le tableau 7. Nos résultats révèlent que l'exposition aux vapeurs d'essence provoque une diminution hautement significative du nombre des globules blancs GB et globules rouge (GR) ($p < 0,01$), de l'hémoglobine sanguine et de la numération plaquettaire ($p < 0,001$) dans le groupe traité par l'essence (VE) par rapport au groupe témoin, ainsi qu'une diminution significative ($p < 0,05$) du volume globulaire moyen (VGM) dans les deux groupes (VE) et (VE + MLT) par rapport au groupe témoin. La supplémentation en mélatonine a entraîné une légère amélioration de ces paramètres.

Tableau 7 : Évaluation du profil hématologique chez les rats témoins et traités au terme de 90 jours de traitement

Parameters	Groups experimental			
	Control	VE	MLT	VE+MLT
GB ($10^3/\text{ul}$)	13,86±1.67	7,34±1.51**	11,31±0.1	12,35±2.32 [#]
GR($10^3/\text{ul}$)	13,23±2.34	10,27±1.37*	11±1.8	10,13±0.6 [#]
Hb(g/dl)	16,68±0.54	12,06±0.76***	15,9±0.82	15,5±0.35
PLT($10^3/\text{ul}$)	973,8±60	590±66***	875±46	711,2±64 [#]
VGM(fl)	55,16±3	45,6±3*	52,44±2	46,54±2

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± erreur standard de la moyenne (SEM). Chaque groupe est constitué de cinq rats.

Les différences statistiques sont indiquées par rapport au groupe contrôle : *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$ pour les groupes MLT et VE.

1.3.4 Impact du traitement sur la fonction thyroïdienne :

L'influence des vapeurs d'essence sur les paramètres thyroïdiens est présentée dans le tableau 8. Les données montrent une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) des taux de triiodothyronine (T3) et une augmentation significative de thyroxine (T4) avec des hausses respectives de 133.1 % ET 47.3 % associée à une diminution significative ($P < 0,05$) de la teneur en thyroïdostimuline (TSH) dans le groupe des rats exposés aux vapeurs d'essence (VE) par rapport au groupe témoin, traduisant une perturbation de l'axe hypothalamo- hypophyso thyroïdien en faveur un état d'hyperthyroïdie.

Cependant, l'administration de mélatonine chez les rats exposés aux vapeurs d'essence (VE +MLT) a significativement amélioré les taux de T3 et T4 par rapport au groupe VE ($p < 0,01$, $p < 0,05$, respectivement) (Tableau 8)

Tableau 8 : Variation des paramètres de la fonction thyroïdienne après 90 Jours du traitement

Paramètres	Control	VE	MLT	VE +MLT
FT3(pmol/l)	3,08±0.34	7,18±0.6*	2,77±0.64	4,60±0.52 [#]
FT4(pmol/l)	12,22±1.85	18±1.38*	12,56±0.85	14,82±0.6 [#]
TSH(mUI /)	0,66±0.26	0,10±0.03*	0,42±0.13	0,33±0.03 [#]

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne $\pm$ SEM ($n = 5$). Une valeur de $*P < 0,05$ est considérée comme significative par rapport aux témoins, et $\#P < 0,05$ par rapport aux rats traités par l'essence .

2. Stress oxydant induit par les vapeurs d'essence : Effets protecteurs de la supplémentation en Mélatonine

2.1. Évaluation des paramètres non enzymatiques du stress oxydatif

2.1.1. Taux du glutathion réduit (GSH)

Les résultats obtenus révèlent une diminution hautement significative ($P < 0,05$) des niveaux de la glutathion réduit (GSH) au niveau hépatique, ainsi qu'une diminution significative au niveau pulmonaire chez les rats exposés aux vapeurs d'essence (VE) comparativement au groupe control.

Par ailleurs, l'administration de la mélatonine a entraîné une restauration des concentrations de GSH dans le foie et les poumons, traduisant ainsi son potentiel effet antioxydant vis-à-vis du stress oxydatif induit par l'exposition. (Figure 14)

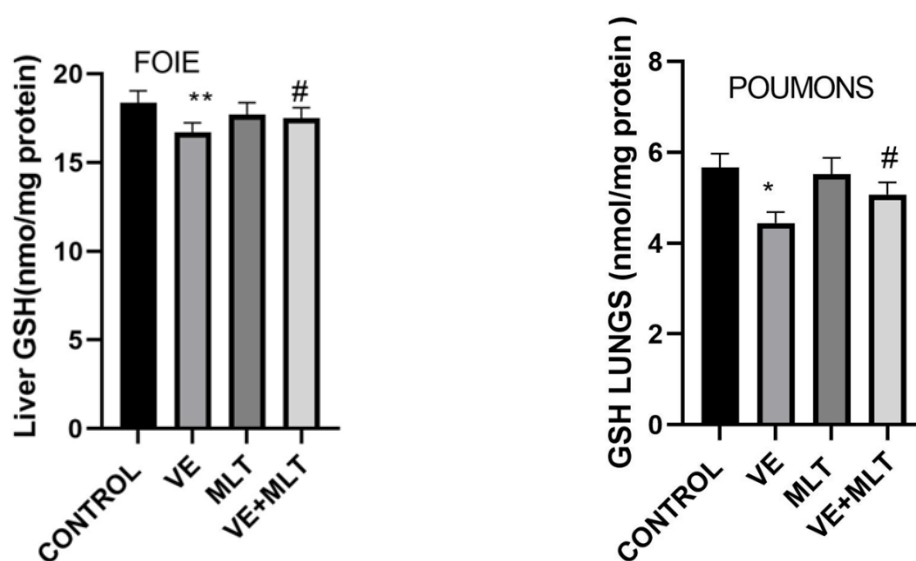


Figure 14. Evolution de l'activité du GSH hépatique et pulmonaire chez les lots expérimentaux témoins et traités $P^* < 0.05$, $p < 0,01$ par rapport aux rats témoins;# : comparativement aux traités aux les vapeurs d'essence .**

2.1.2 Peroxydation lipidique (MDA)

L'altération des mécanismes antioxydants hépatiques et pulmonaires a été associée à une peroxydation lipidique marquée, mise en évidence par une augmentation hautement significative ($P < 0,01$) des niveaux de MDA dans le foie, ainsi qu'une élévation significative ($P < 0,05$) au niveau des poumons. En revanche, la supplémentation en ☐ mélatonine (MLT) a permis d'améliorer de manière significative les taux de MDA dans les deux organes étudiés, à savoir le foie et les poumons

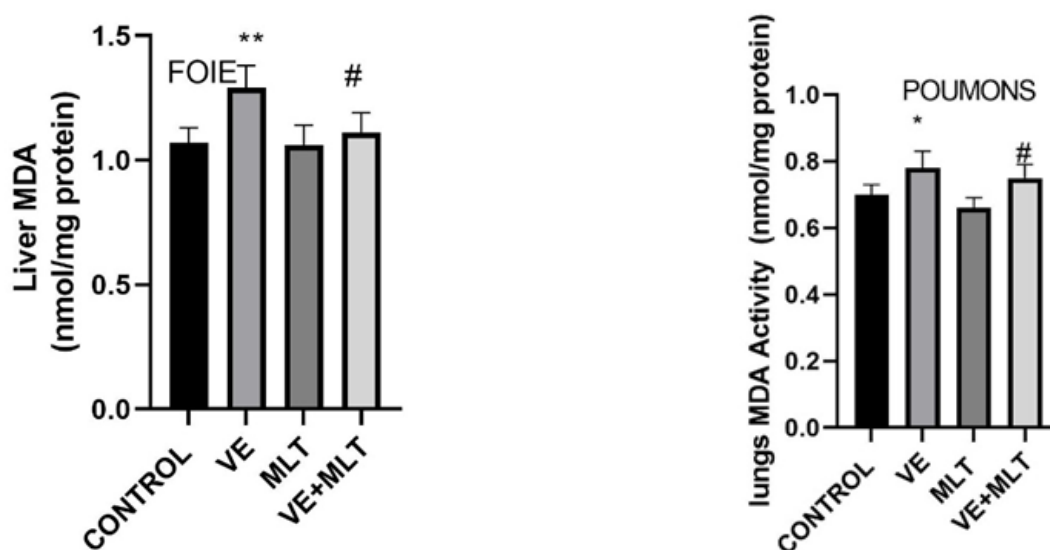


Figure 15 : Evaluation de l'activité du GSH hépatique et pulmonaire chez les lots expérimentaux témoins et traités $P^* < 0.05$, $**p < 0,01$ par rapport aux rats témoins; # : comparativement aux traités aux les vapeurs d'essence

2.2 Effet des vapeurs d'essence sur les paramètres enzymatiques

2.2.1 Le superoxyde dismutase (SOD)

Nos résultats indiquent que l'exposition des rats aux vapeurs d'essence pendant 90 jours a entraîné une diminution significative ($p < 0,05$) de l'activité enzymatique de la SOD au niveau hépatique et pulmonaire, en comparaison avec le groupe témoin. En revanche, une tendance à la restauration de cette activité, se traduisant par une augmentation significative de la SOD dans le foie et les poumons, a été observée chez le groupe traité par la combinaison MLT + VE. (Figure 16)

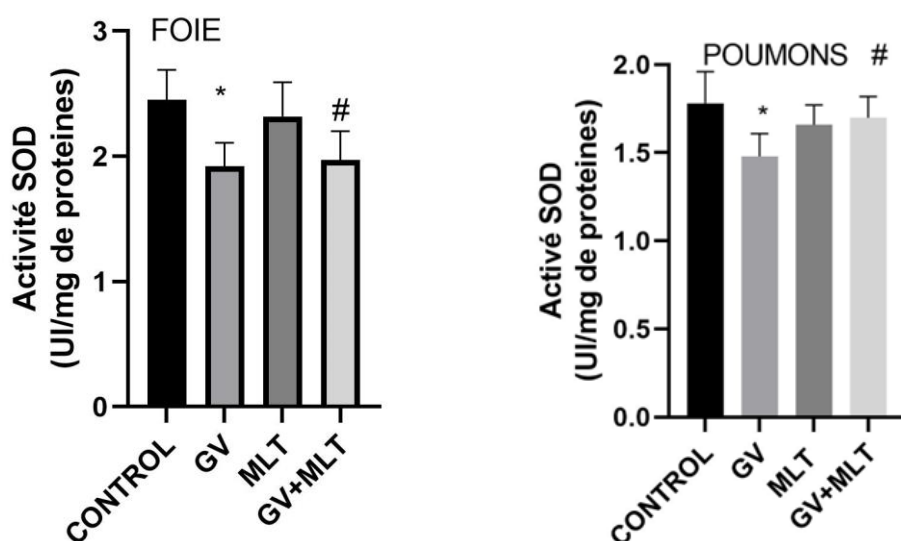


Figure 16 : Evaluation de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase dans le foie et les poumons chez les groupes témoins et traités. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$: par rapport aux lots témoins ; # $p < 0.05$; ## $p < 0.01$: comparativement aux rats exposés aux vapeurs d'essence

2.2.2. La catalase (CAT)

D'après les résultats obtenus (Figure 17), une diminution significative ($P < 0,05$) de l'activité enzymatique de la catalase est observée au niveau du foie et une diminution hautement significative ($p < 0,01$) au niveau des poumons chez les rats exposés au vapeurs d'essence (VE), en comparaison avec les rats témoins. Par ailleurs, la co-administration de mélatonine (MLT+VE) avec l'essence a permis d'atténuer cette altération, comme en témoigne une augmentation significative ($p < 0,05$) de l'activité de la catalase dans le foie et les poumons, par rapport au lot traité uniquement par les vapeurs d'essence (VE). (Figure 17)

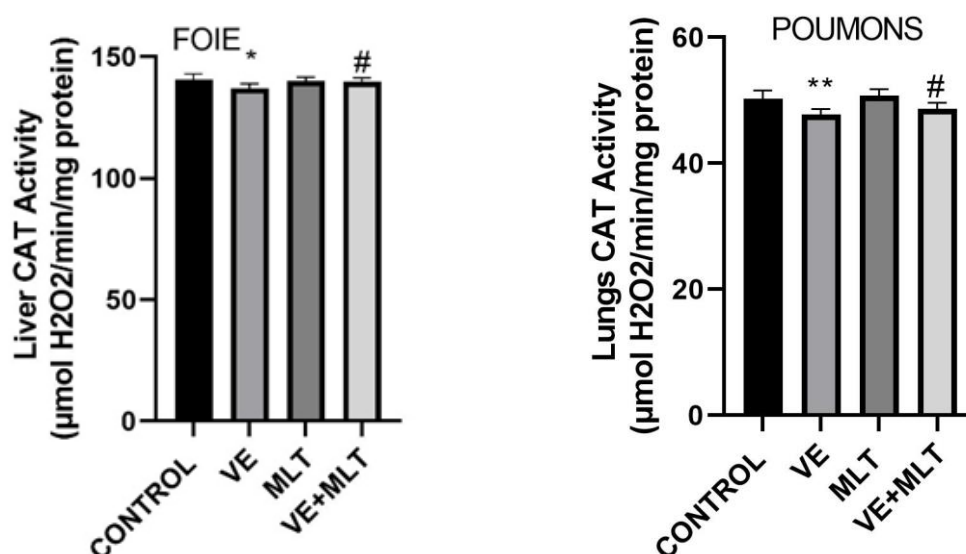


Figure 17 : Étude de l'activité de la catalase hépatique et pulmonaire chez les lots témoins et traités après 90 semaines de traitement. Les niveaux de signification sont : * $P < 0,05$ et ** $P < 0,01$ vs témoins ; # $P < 0,05$ et ## $P < 0,01$ vs lots traités par l'essence.

2.2.3. La glutathion peroxydase (GPx)

l'exposition des rats aux vapeurs d'essence a entraîné une augmentation significative ($p < 0,05$) de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) au niveau hépatique et pulmonaire. En revanche, la co-administration de mélatonine (VE+MLT) avec l'essence a induit une diminution significative de l'activité de la GPx dans le foie et les poumons, en comparaison avec le groupe traité uniquement par les vapeurs d'essence (VE).

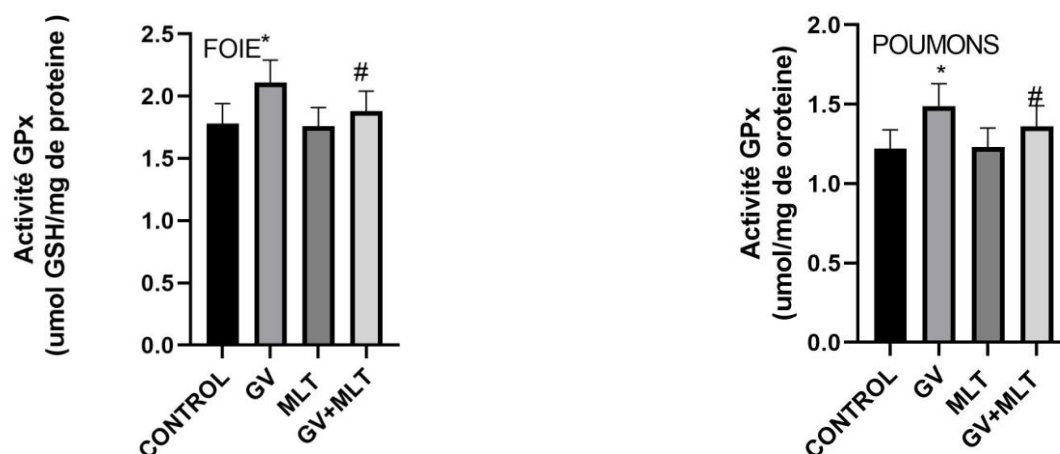


Figure 18 : Étude de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx) hépatique et pulmonaire chez les lots témoins et exposés aux vapeurs d'essence (* $P < 0,05$ vs témoins ; # $P < 0,05$ vs vapeurs essence).

2.2.4. Glutathion - S- transférase (GST)

L'exposition des rats aux vapeurs d'essence (VE) a induit une diminution hautement significative ($p < 0,01$) de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST) dans le foie, et une diminution significative ($p < 0,05$) au niveau pulmonaire en comparaison avec les rats témoins.

En revanche, l'administration combinée de mélatonine et d'essence (VE+MLT) a permis un rétablissement de cette activité, se traduisant par une augmentation significative ($p < 0,05$) de la GST au niveau hépatique et pulmonaire chez les rats traités par MLT + VE, par rapport au groupe exposé uniquement à l'essence (Figure 19).

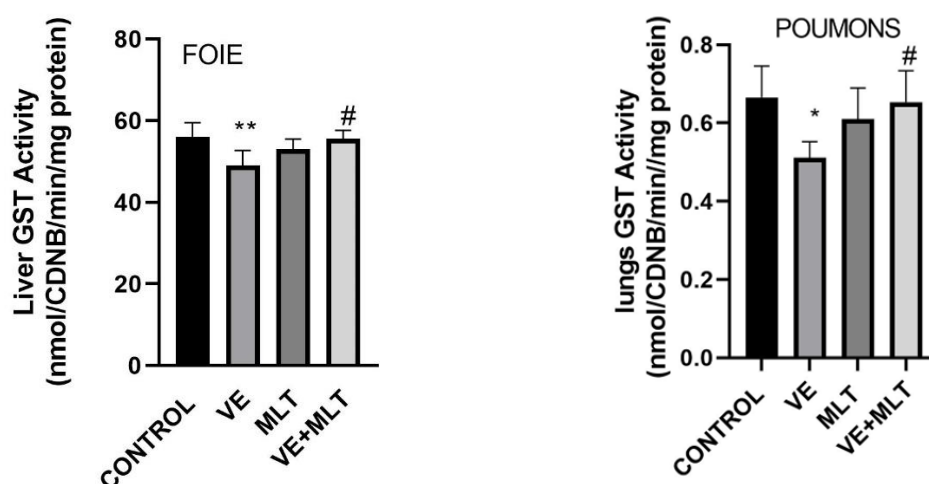


Figure 19 : Evaluation de l'activité de la GST dans le foie et les poumons chez les rats témoins et traités. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$: comparativement aux rats témoins ;# $p \leq 0.05$: comparativement aux lots traités par les VE.

3. Étude histologique :

Les modifications histopathologiques de la thyroïde et les poumons des rats exposés aux vapeurs l'essence sont illustrées aux figures 20 et 21, respectivement.

3.1 Étude histologique de la thyroïde

Les coupes histologiques de la thyroïde ont montré des changements morphologiques et une dilatation des follicules, qui pourraient être liés à la toxicité des vapeurs d'essence de métaux lourds ou des composés d'hydrocarbures volatils. L'examen microscopique de l'histologie de la thyroïde des rats témoins et des rats traités à la mélatonine a révélé un tissu thyroïdien normal, comprenant une structure normale contenant un ensemble de follicules de différentes tailles (Fl), à l'intérieur des follicules se trouve de la colloïde (Cl) dont le précurseur est la thyroglobuline (Tg), une cellule parafolliculaire entoure les follicules, les cellules parafolliculaires (pfc) qui forment l'épithélium folliculaire (Figure 20 A,B,C, D et E). Cependant, les follicules ont subi une dilatation synonyme d'hyperplasie du tissu folliculaire associée à une hypertrophie de l'épithélium folliculaire dans les groupes traités à l'essence (Figure 20.F,G, H et I). Les coupes de la thyroïde des rats ayant reçu le traitement combiné de l'essence et la mélatonine présente moins de modifications histologiques : l'épithélium folliculaire est de structure normale (EpFn) entouré des cellules para-folliculaires bien différenciées (cpf), bien que la dilatation folliculaire persiste, l'intensité des lésions du tissu thyroïdien est significativement réduite (Figure 20 J, K et L).

3.2 Etude histologique des poumons :

Les diapositives pulmonaires colorées H&E des différents groupes étudiés sont présentées dans la figure 21 et montrent les groupes témoins (A) et mélatonine (B) avec des structures pulmonaires normales de sacs alvéolaires et d'alvéoles avec des septa interalvéolaires minces et épais. En outre, le groupe pulmonaire témoin présentait des bronchioles et des vaisseaux sanguins normaux. En revanche, le groupe exposé aux vapeurs l'essence (C et D) présentait un épaississement (hypertrophie) de la couche musculaire de la paroi bronchique, des vaisseaux sanguins congestionnés et une prolifération marquée du tissu interstitiel, des hémorragies et la formation d'une couche épaisse avec un nombre réduit d'alvéoles effondrées.

En revanche, les poumons des rats du groupe exposés aux vapeurs d'essence + mélatonine (E) présentaient une réduction de l'hypertrophie des bronchioles, de l'affaissement des alvéoles et des vaisseaux sanguins, ainsi qu'une prolifération marquée du tissu interstitiel, ce qui indique une amélioration du tissu pulmonaire à la suite de l'administration de mélatonine.

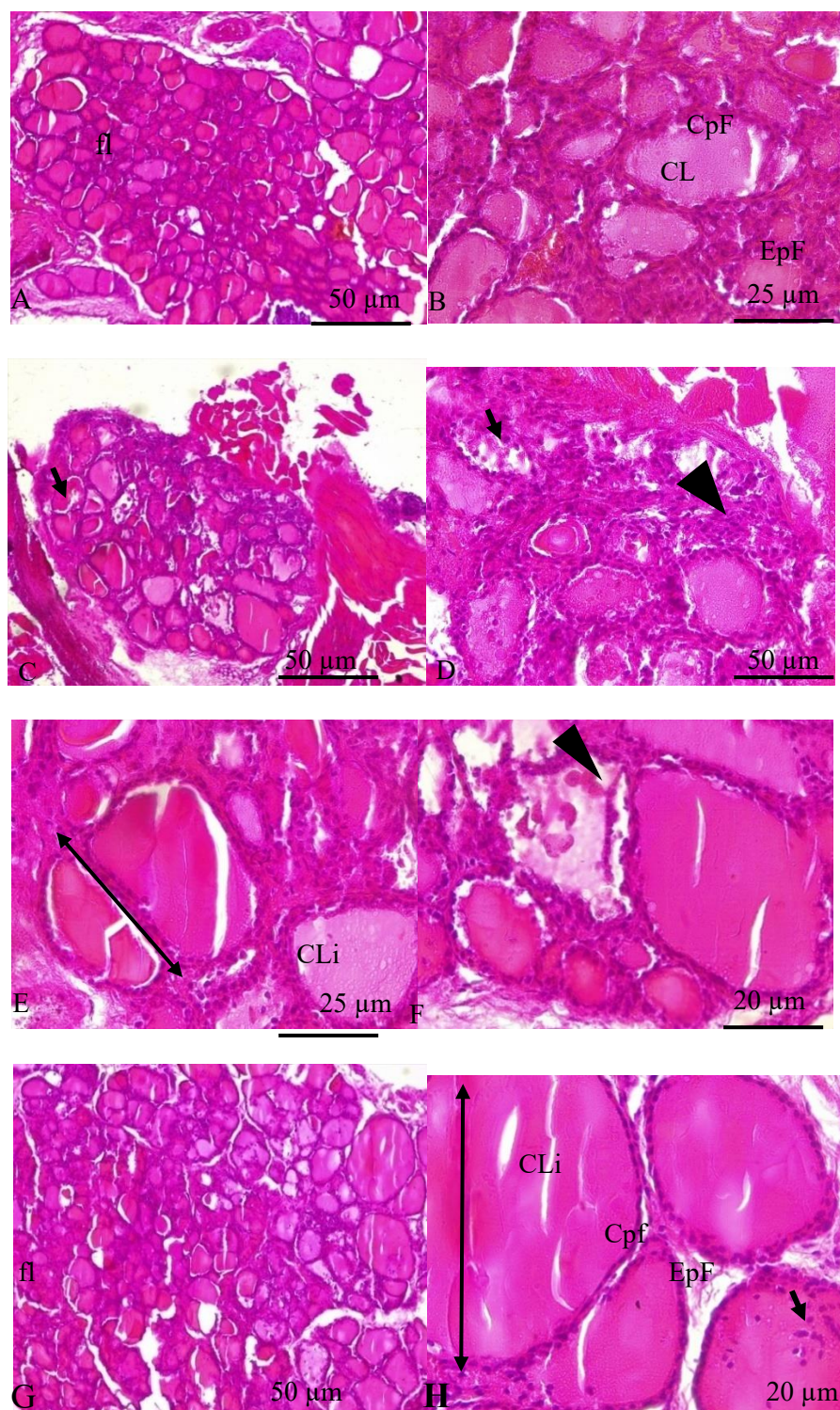


Figure 20 : Représentation des coupes histologiques de thyroïde de rat colorées à l'hématoxyline éosine, rat témoin (A, B, C, D et E) montrant un tissu thyroïdien de structure normale renfermant un ensemble de follicules de différentes taille (Fl), à l'intérieur des follicules se trouve la colloïde (Cl) dont le précurseur est la thyroglobuline (Tg), les follicules sont entourés par une assise cellulaire, les cellules para folliculaires (cpf) qui forment l'épithélium folliculaire (EpF). Rats exposés aux vapeurs d'essence (F, G, H, I) montrant une dilatation des follicules synonyme d'une hyperplasie du tissu folliculaire (double flèche) associé à une hypertrophie de l'épithélium folliculaire (étoile). Rats exposés aux HAP et traités par la mélatonine (J, K, L) les coupes montrent un épithélium folliculaire de structure normale (EpFn) entouré d'une assise de cellules para folliculaires bien différenciés (cpf), toutefois persistance de la dilatation folliculaire (double flèche). Grossissements 25, 40 et 50 X.

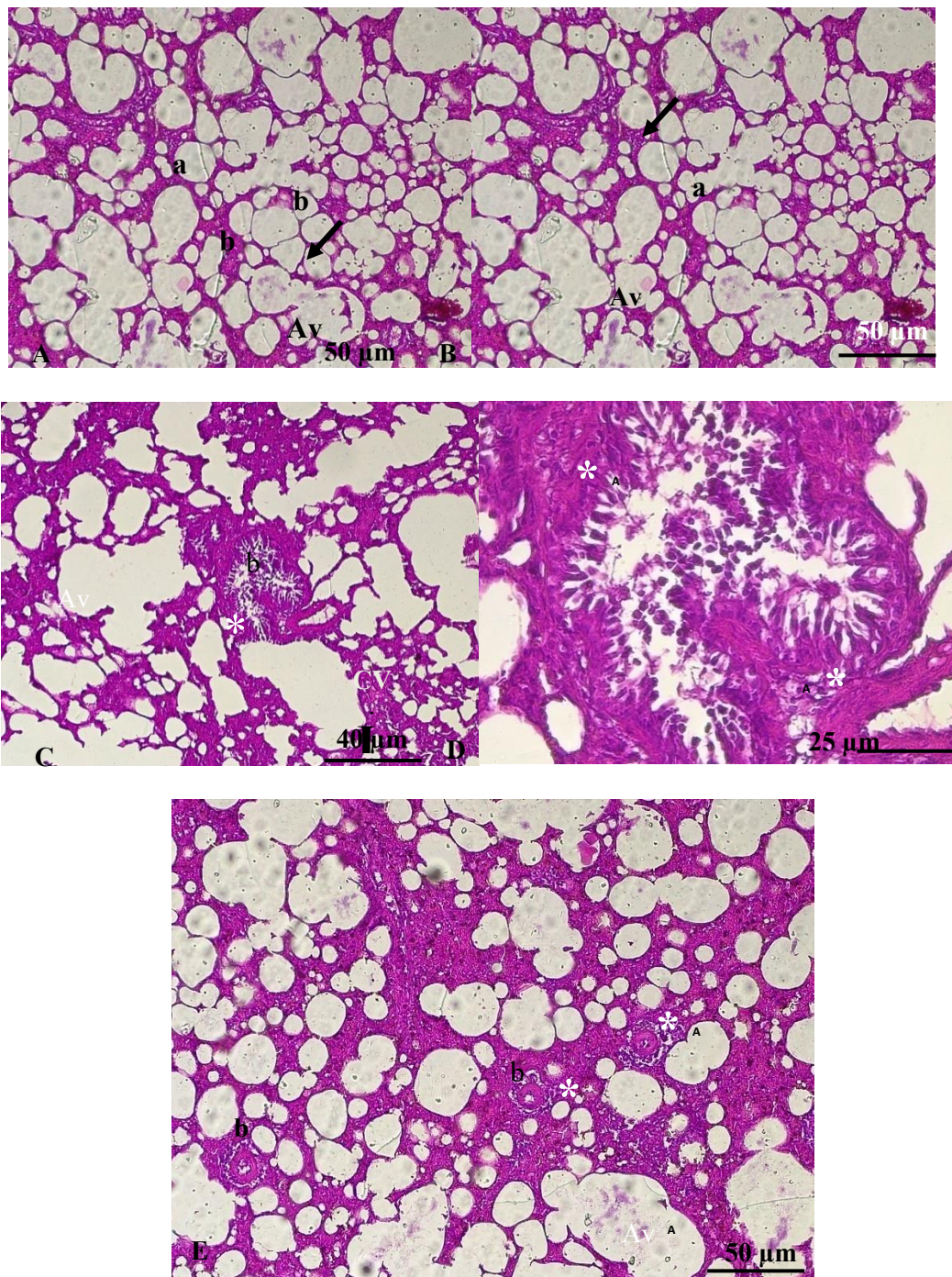


Figure 21 :Photomicrographies des poumons colorés au H&E dans les groupes témoins (A) et traités à la mélatonine (B) montrant des structures pulmonaires normales de sacs alvéolaires (Av), d'alvéoles (a), de septa intervalvéolaires fins (flèche noire), en plus des structures pulmonaires normales de bronchioles (b) et de vaisseaux sanguins (v) apparaissant dans le groupe témoin. Groupe exposé aux vapeurs d'essence (C et D) montrant des bronchioles (B) avec un épaississement (hypertrophie) de la couche musculaire de la paroi bronchique (étoile), des vaisseaux sanguins congestionnés (CV), dans le tissu interstitiel (I) qui forme un épaississement des septa intervalvéolaires (flèche) et des alvéoles effondrées (A). Le groupe essence + mélatonine (D) a montré une diminution de l'hyperplasie des bronchioles (étoile), une réduction de la prolifération des hémorragies (H) dans le tissu interstitiel (I), l'apparition de sacs alvéolaires (AS) et d'alvéoles (A) avec des septas alvéolaires minces (pointe de flèche) et épais (flèche) par rapport au groupe essence. (E) exposés à l'essence et à la mélatonine ont montré une réduction de l'hyperplasie des bronchioles (étoile), une diminution de l'hémorragie (H) dans le tissu interstitiel (I), l'émergence de sacs alvéolaires (AS). Grossissement 25 40 50 X.

Chapitre 6 : Discussion

L'utilisation des produits pétroliers a connu une augmentation significative à l'échelle mondiale, et l'Algérie se distingue parmi les pays qui dépendent principalement de l'exploration du pétrole brut pour soutenir leurs revenus. L'essence, issue du fractionnement du pétrole brut, se compose d'un mélange complexe de toluène, de xylène, de benzène, ainsi que de plus de cent autres hydrocarbures. Elle figure parmi les principaux contaminants de l'air, dont l'impact négatif sur la santé des humains et des animaux est largement déterminé. (Chukwudi et al., 2016). Ce polluant peut entrer dans l'organisme par plusieurs voies d'exposition, notamment l'ingestion, l'absorption cutanée ou l'inhalation. Cette dernière voie est particulièrement préoccupante, car elle impacte un large éventail de personnes, notamment les travailleurs des stations-service (Sedky et al., 2015). Il est donc impératif d'évaluer les risques toxicologiques associés à l'exposition à ce carburant, compte tenu de son impact direct sur la santé publique.

La question des expositions environnementales à des substances chimiques susceptibles de perturber le système endocrinien constitue un enjeu majeur depuis longtemps (Dallot, 2016). Avant cette prise de conscience, de nombreux polluants, y compris les hydrocarbures, ont été relâchés dans l'environnement, connus pour leur toxicité et leur persistance (Jousse, 2017).

L'essence est un liquide volatil constitué d'un mélange complexe d'hydrocarbures aliphatiques et aromatiques, dont certains composants sont reconnus pour leur toxicité élevée ou leur potentiel cancérogène pour l'homme (Mehlman, 1990 ; Caprino, 1998). Les effets toxicologiques associés à l'exposition à l'essence peuvent être attribués à des substances spécifiques telles que le benzène, le toluène, l'éthylène et le xylène, classés parmi les composés organiques volatils (COV) (Kirchstetter, 1999).

La présence de métaux lourds, connus pour leur potentiel pro-oxydant et leurs effets toxiques hépatiques et pulmonaires, explique en partie les perturbations métaboliques et histopathologiques observées dans notre étude. Ces résultats confirment que l'essence utilisée représente une source importante de contaminants pouvant induire un stress oxydatif et des altérations tissulaires chez les rats exposés. L'analyse de l'essence utilisée dans cette expérimentation a révélé une contamination marquée par des métaux lourds tels que le plomb, le cadmium, le nickel et le chrome. Ces métaux sont reconnus pour générer des espèces réactives de l'oxygène, perturber l'équilibre enzymatique antioxydant et provoquer des lésions

inflammatoires dans divers tissus. Chez les rats exposés aux vapeurs d'essence pendant 90 jours, ces effets se sont traduits par une augmentation du poids relatif du foie et des poumons, associée à des altérations histopathologiques significatives (désorganisation architecturale, congestion vasculaire, épaississement des cloisons et infiltration cellulaire) et à des modifications biochimiques (élévation des paramètres hépatiques, déséquilibre du système antioxydant). Ces résultats suggèrent que les vapeurs d'essence riches en métaux lourds exercent une toxicité systémique marquée, impliquant un stress oxydatif, une réponse inflammatoire et des remaniements tissulaires, en accord avec les observations rapportées par Mahboob et al. (2002). La concentration élevée de métaux lourds favorise l'accumulation de radicaux libres et provoque une congestion vasculaire et un œdème tissulaire. Ces phénomènes expliquent l'augmentation du poids relatif du foie et des poumons observés dans notre étude, ainsi que les lésions tissulaires caractéristiques d'un stress oxydatif chronique. Adeyemi et al. (2019) soulignent que la toxicité des carburants est souvent due à la présence de métaux lourds, qui induisent le stress oxydatif et l'inflammation dans divers tissus. En conséquence, la présence de ces métaux lourds dans l'essence constitue un facteur aggravant de toxicité, expliquant les perturbations métaboliques, histologiques et endocriniennes révélées dans cette étude. Ces résultats soulignent l'importance de surveiller et de limiter la teneur en métaux lourds dans les carburants afin de réduire les risques pour la santé humaine et animale.

Dans la présente étude, nous avons évalué l'impact des vapeurs d'essence sur différents paramètres physiologiques de l'organisme, ainsi que le potentiel effet protecteur de la supplémentation en mélatonine.

L'exposition des rats aux vapeurs d'essence, avec ou sans supplémentation en mélatonine, a entraîné une augmentation significative du poids corporel par rapport au groupe témoin. Cependant, le groupe ayant uniquement reçu de la mélatonine a montré une augmentation du poids corporel, bien que cette variation ne soit pas significative par rapport au groupe témoin. Ces résultats rejoignent les conclusions d'Uboh et al. (2005), qui ont observé une augmentation significative du poids corporel total et du taux de croissance chez les rats exposés aux vapeurs d'essence. Tilibury et al. (1993) ont également rapporté une augmentation significative du poids moyen chez les souris mâles au cours de l'expérimentation.

Une étude pertinente menée par Wolden-Hanson et al. (2000) a montré que l'administration quotidienne de mélatonine à des rats mâles âgés de 10 mois (Sprague Dawley) pendant 12 semaines entraînait une réduction significative du poids corporel (diminution de 7 % par rapport aux témoins), indépendamment de l'apport alimentaire et de la masse grasse totale, suggérant que la mélatonine pourrait moduler le métabolisme corporel sans affecter directement l'alimentation ou la quantité totale de graisses corporelles.

Concernant le poids des organes, notre étude a révélé qu'une exposition chronique (90 jours) aux vapeurs d'essence entraînait une augmentation significative du poids relatif du foie et des poumons des rats exposés, par rapport aux témoins. Ces résultats s'alignent avec plusieurs études : Uboh et al. (2005) ont rapporté une augmentation du poids relatif du foie et des poumons chez des rats exposés aux vapeurs d'essence pendant 6 semaines, attribuée à des modifications histopathologiques telles que la stase sanguine et l'infiltration inflammatoire. Mahboob et al. (2002), dans une étude sur des travailleurs exposés aux hydrocarbures, ont suggéré que l'inhalation chronique de vapeurs d'essence peut entraîner une hypertrophie fonctionnelle du foie et des modifications inflammatoires pulmonaires, traduites par un accroissement de la masse tissulaire. Adeyemi et al. (2019) ont également observé que des animaux aquatiques exposés à des carburants présentaient une augmentation du poids relatif des organes respiratoires et métaboliques, due à la congestion et à l'infiltration cellulaire. Ces augmentations peuvent être attribuées à des processus inflammatoires, une congestion vasculaire, un œdème interstitiel et une activation du système enzymatique hépatique, entraînant une augmentation de la masse tissulaire de ces organes. Une augmentation de la taille de la glande thyroïde a été observée chez les rats traités avec divers hydrocarbures polycycliques (Curran et DeGroot, 1991). Par ailleurs, de nombreuses études ont suggéré un effet inhibiteur de la mélatonine sur les processus de croissance de la thyroïde. Des recherches antérieures ont montré que l'ectomie pinéale, soit l'élimination de la principale source de mélatonine, entraînait une augmentation du poids de la thyroïde chez le rat (Lewinski et Karbownik, 2002). Cependant, la coadministration de mélatonine aux rats traités a permis de restaurer le statut pondérale (foie, poumons et thyroïde), probablement dû à la restauration de l'appétit grâce à l'effet protecteur de la mélatonine.

Le foie, considéré comme l'organe majeur du métabolisme et de l'excrétion, occupe une place fondamentale dans les processus de détoxification des xénobiotiques (Rjeibi et al., 2016). En raison de son exposition précoce aux substances toxiques d'origine digestive via la veine porte, il assure une action chimique et enzymatique sur ces substances (LeeCluyse et al., 2012).

Lors d'une insuffisance hépatique, ces substances indésirables s'accumulent dans l'organisme et peuvent provoquer des effets toxiques. En tant qu'organe central de détoxification, le foie est particulièrement vulnérable aux xénobiotiques, tout en étant le principal protecteur de l'organisme contre ces substances. La présence accrue d'enzymes hépatiques, telles que l'ALAT, l'ASAT et la bilirubine totale, dans le sérum sanguin constitue un indicateur de lésions des cellules hépatiques et de dysfonctionnement hépatique (Bischoff et al., 2018). Les résultats révèlent une élévation significative de l'ALAT, de l'ASAT et de la bilirubine totale chez les groupes traités comparativement aux témoins.

L'exposition des rats aux vapeurs d'essence pendant 12 semaines a entraîné une élévation significative des niveaux de bilirubine totale et des transaminases plasmatiques. Cette augmentation de l'activité enzymatique est en accord avec plusieurs études ayant observé une hyperactivité enzymatique hépatique chez les travailleurs exposés à l'essence, ainsi que chez des animaux de laboratoire (Jabir et al., 2016 ; Folarin et al., 2017 ; Mehdi-Araghi et Ahmadi, 2013). Akintonwa et Oladele (2003) ont rapporté des résultats similaires chez des travailleurs des stations de pompage. Une étude menée par Nwanjo et Ojiako, portant sur 20 travailleurs de stations-service ayant entre 6 et 10 ans d'exposition à l'essence, a montré une augmentation significative des phosphatases alcalines (ALP), de l'ASAT et de l'ALAT par rapport aux témoins non exposés. Ces résultats confirment l'effet hépatotoxique des composants de l'essence, qui, à long terme, peuvent altérer la perméabilité membranaire et favoriser l'apparition de la nécrose hépatique (Pai, 1998 ; Neghab et al., 2015).

Dans le plasma, les déshydrogénases sont des indicateurs importants de l'activité fonctionnelle du foie, jouant un rôle clé dans la désintoxication, le métabolisme et la biosynthèse des macromolécules énergétiques. L'augmentation de la concentration plasmatique de la LDH observée dans notre étude suggère une accélération du transfert de ces enzymes du cytosol hépatique vers la circulation sanguine, impliquant une destruction cellulaire au niveau du foie. Ces résultats corroborent ceux d'Egemen et al. (2008) ainsi que d'Adeyemi et al. (2010), qui ont démontré que l'exposition au benzène altère la perméabilité des membranes plasmatiques du foie.

Outre cette enzyme marqueur, la créatine phosphokinase (CPK) est une enzyme intracellulaire présente dans divers tissus, notamment dans le muscle cardiaque. Nos résultats révèlent également une augmentation de la concentration de CPK dans le plasma des rats exposés aux vapeurs d'essence. Cette réponse métabolique pourrait être due à des altérations structurales au niveau du myocarde, provoquées par les composants de l'essence, entraînant la libération de cette réserve cytoplasmique d'enzymes marqueurs, telles que la créatine phosphokinase. D'autres études ont rapporté des résultats similaires avec un protocole d'exposition comparable (Anakwue et al., 2018). Dans cette étude, nous avons observé une diminution des niveaux plasmatiques de CPK et de LDH chez les rats traités par les vapeurs d'essence et la mélatonine, comparativement au groupe exposé à l'essence. Ces résultats sont en accord avec ceux de certains auteurs, qui ont montré que les activités accrues de la CPK et de la LDH sont réduites après l'administration de mélatonine (Ersahin et al., 2009 ; Aslaner, 2013). Cela suggère que la mélatonine joue un rôle clé dans la protection de l'intégrité cellulaire grâce à ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anti-apoptotiques.

Il existe plusieurs mécanismes par lesquels la mélatonine pourrait favoriser la survie cellulaire en réduisant l'inflammation et les lésions, tout en inhibant l'apoptose (Ali et al., 2015). La mélatonine pourrait également préserver l'intégrité des membranes cellulaires en limitant la fuite des enzymes (CPK, LDH) et en réduisant les dommages moléculaires (He et al., 2010). D'autres recherches suggèrent que la réduction de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les cellules traitées par mélatonine pourrait jouer un rôle dans la signalisation apoptotique mitochondriale, en ciblant plusieurs protéines, telles que NF- κ B (nuclear factor-kappa B) (Letechipia-Vallejo et al., 2001 ; Luchetti et al., 2010 ; Wang et al., 2009). La mélatonine semble maintenir un niveau optimal d'oxygène réactif pour les processus anti-apoptotiques, soulignant son rôle bénéfique dans la cascade de signalisation de l'apoptose. Ces effets sont compatibles avec la capacité de la mélatonine à prévenir l'infarctus du myocarde chez le rat (Cabrera et al., 2003 ; Mukherjee et al., 2010 ; Patel et al., 2010 ; Aslaner, 2013).

Dans notre étude, l'exposition chronique aux vapeurs d'essence a entraîné une élévation significative des hormones thyroïdiennes T3 et T4, associée à une diminution de la TSH,

traduisant un état d'hyperthyroïdie fonctionnelle. Ce profil hormonal suggère une stimulation excessive de la glande thyroïde, probablement liée au stress oxydatif et à l'action perturbatrice de certains composés de l'essence, notamment les métaux lourds (Pb, Ni, Cd). L'administration de mélatonine a permis d'atténuer ces altérations hormonales, confirmant son effet protecteur sur la fonction thyroïdienne, en accord avec les observations d'Aydin et al. (2013) et d'Akbulut et al. (2014), qui ont montré une normalisation des marqueurs thyroïdiens après traitement par la mélatonine dans des modèles de stress oxydatif.

Concernant l'étude *in vivo*, nos résultats indiquent que l'exposition des rats aux vapeurs d'essence pendant 90 jours a induit une réponse au niveau de la fonction hépatique, thyroïdienne et pulmonaire entraînant une augmentation des paramètres biochimiques liés à la fonction hépatique et à l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien.

Les résultats de notre étude indiquent que les paramètres liés au stress oxydatif, tels que les concentrations de malondialdéhyde (MDA) et de glutathion réduit (GSH), ainsi que les réponses enzymatiques de certaines enzymes antioxydantes (catalase, superoxyde dismutase [SOD], glutathion peroxydase [GPx] et glutathion-S-transférase [GST]), corroborent cette hypothèse (Chaib, 2023). L'état oxydatif résulte de la surproduction et de l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), ce qui entraîne des dommages à l'intégrité des membranes cellulaires (Voronkova et al., 2018).

Notre étude a démontré que l'exposition des rats aux vapeurs d'essence pendant 90 jours entraînait des modifications des niveaux de GSH et de MDA, inhibait l'activité de GST et de catalase, et augmentait les concentrations de MDA et de GPx, tout en réduisant celles de SOD dans le foie et les poumons des rats traités par rapport au groupe témoin. L'appauvrissement du statut antioxydant souligne que l'exposition aux vapeurs d'essence peut favoriser la génération de ROS, conduisant ainsi à la peroxydation des lipides et à des dommages oxydatifs.

L'épuisement significatif des niveaux de GSH confirme l'effet potentiel de l'essence à induire un stress oxydatif au niveau hépatique et pulmonaire. De nombreuses études, tant sur des animaux de laboratoire que sur des humains, s'accordent à dire que l'exposition à l'essence est associée à une détérioration du statut antioxydant, illustrée par une augmentation des niveaux

de MDA et une diminution des activités de GSH et des enzymes antioxydantes (Al-Fartosy et al., 2017).

Une élévation des activités de GST et de GPx, associée à une diminution de l'activité de SOD et de catalase, pourrait refléter soit une réponse adaptative, soit un déséquilibre au sein du système antioxydant. L'augmentation des activités de GST et de GPx peut être interprétée comme une tentative de l'organisme de neutraliser les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène. Cependant, la diminution des activités de SOD et de catalase, deux enzymes cruciales dans la défense contre le stress oxydatif, pourrait indiquer une altération de la capacité de l'organisme à éliminer efficacement les espèces réactives, ce qui pourrait avoir des conséquences sur la santé cellulaire et tissulaire.

Par ailleurs, la composition en alcanes, toluène, xylènes, benzène et métaux lourds des vapeurs d'essence présente un risque important pour la santé. Ces composés induisent principalement un stress oxydatif, une inflammation et des effets apoptotiques, qui sont des mécanismes clés de la toxicité de l'essence (Al-Fartosy et al., 2017 ; Liao et al., 2022).

La diminution significative des niveaux de GSH, associée à une augmentation de l'activité de GST et de GPx, peut être interprétée comme une réponse adaptative de l'organisme face au stress oxydatif. Le GSH joue un rôle crucial dans la défense cellulaire contre les dommages oxydatifs en agissant comme un antioxydant majeur. En cas d'accumulation accrue de ROS, le GSH est consommé pour neutraliser ces espèces, ce qui entraîne une réduction de sa concentration dans les cellules. Dans ce contexte, l'élévation de l'activité des enzymes GST et GPx peut être perçue comme une tentative de l'organisme de compenser la diminution de GSH et de maintenir l'équilibre redox.

Cependant, ce mécanisme peut atteindre ses limites si le stress oxydatif est trop intense ou persistant, entraînant un déséquilibre dans le système antioxydant. Ainsi, la diminution des niveaux de GSH, accompagnée d'une augmentation de GST et de GPx, pourrait signaler une réaction adaptative au stress oxydatif, tout en révélant une pression accrue sur les systèmes de défense antioxydante.

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre les espèces pro-oxydantes et les antioxydants, pouvant entraîner des perturbations du métabolisme cellulaire. Il est notamment impliqué dans des dommages à l'ADN causés par des radicaux libres, un facteur intervenant à divers stades du développement tumoral (Halliwell et al., 1989). La peroxydation des lipides génère des radicaux lipidiques et des composés instables tels que les alcanes, le malondialdéhyde (MDA) et les hydroperoxydes, provoquant d'importants dommages cellulaires (Ogetürk et al., 2011). Le MDA est reconnu comme un mutagène et un agent génotoxique susceptible de favoriser le cancer chez l'homme (Feron et al., 1991). La peroxydation lipidique (LPO) peut directement provoquer des cassures de l'ADN et l'oxydation des bases azotées (Cochrane, 1991), et in vivo, les peroxydes lipidiques exercent également une activité promoteur de tumeurs (Park, 1972).

Dans notre expérience, l'administration de mélatonine a inversé les effets néfastes des vapeurs d'essence. Les rats traités avec de la mélatonine ont montré une restauration des niveaux de GSH, une réduction des concentrations de MDA et une récupération de l'activité enzymatique antioxydante (catalase et GST), accompagnée d'une diminution de l'activité de GPx. L'effet protecteur de la mélatonine peut être attribué à ses propriétés antioxydantes, qui protègent les cellules des dommages oxydatifs (Chaib et al., 2023). En raison de sa nature amphiphile, la mélatonine traverse les barrières physiologiques et réduit les dommages oxydatifs. En plus de sa capacité à piéger diverses espèces radicalaires, elle augmente l'activité des enzymes antioxydantes et réduit le niveau de peroxydation (Aranarochana et al., 2021 ; Monteiro et al., 2024).

L'exposition prolongée aux vapeurs d'essence a été associée à divers effets toxiques sur les organes respiratoires. Cette étude vise à évaluer les altérations histopathologiques induites dans les poumons de rats suite à une inhalation chronique de vapeurs d'essence. Les coupes histologiques ont révélé une désorganisation de l'architecture pulmonaire, une congestion vasculaire, une infiltration inflammatoire péribronchique et interstitielle, ainsi qu'un épaississement des cloisons alvéolaires. Ces anomalies traduisent une réaction inflammatoire aiguë suivie de lésions chroniques liées à l'inhalation de composés organiques volatils présents dans les carburants, notamment le benzène, le toluène et le xylène. L'intensité des lésions semblait proportionnelle à la durée et à la concentration d'exposition. Ces résultats confirment le pouvoir toxique des vapeurs d'essence sur le tissu pulmonaire et soulignent la

nécessité de mesures de prévention, notamment en milieu professionnel.

Les résultats de notre étude sont en accord avec ceux d'Al-Ghamdi et al. (2020), qui ont montré que l'exposition des rats aux vapeurs d'essence (6 heures par jour pendant 10 semaines) peut provoquer une apoptose des cellules épithéliales et des altérations de la structure des alvéoles, ainsi que ceux d'Ezejiofor et al. (2018) et d'Ibeh et al. (2021).

Dans notre étude, l'administration de mélatonine a permis d'atténuer ces lésions. Les coupes histologiques des rats traités avec la mélatonine ont révélé une préservation de la structure alvéolaire, une réduction nette de l'inflammation et une diminution de la congestion vasculaire. Kaya et al. (2020) ont observé que l'administration intrapéritonéale de mélatonine (50 mg/kg pendant 5 jours) protège efficacement le tissu pulmonaire. Ce résultat est cohérent avec plusieurs études ayant démontré le rôle protecteur de la mélatonine contre divers types d'agressions pulmonaires, y compris l'irradiation, le stress oxydatif et l'exposition à des substances chimiques toxiques (Wang et al., 2021).

Les observations histologiques de la glande thyroïde ont révélé des changements morphologiques et une dilatation des follicules, accompagnées d'une hypertrophie de l'épithélium folliculaire dans les groupes exposés aux vapeurs d'essence. Ces résultats suggèrent une réponse morphologique de la glande thyroïde face à l'exposition chronique aux vapeurs d'essence. À notre connaissance, aucune étude antérieure n'a fourni d'observations histologiques sur la glande thyroïde de rats exposés aux vapeurs d'essence. Cette recherche apporte une contribution originale en explorant un organe endocrinien peu étudié dans ce contexte toxicologique.

Les effets protecteurs de la mélatonine ont également été rapportés par Campos et al. (2019) contre les lésions chez des rats soumis à un modèle d'ischémie/reperfusion cérébrale. Chaib et al. (2023) ont également indiqué que la supplémentation en mélatonine (10 mg par voie orale) peut exercer un effet protecteur significatif contre le stress oxydatif induit par le luniron chez le rat, en préservant l'architecture tissulaire des testicules et en réduisant de manière marquée les signes d'apoptose. Cela suggère que la mélatonine pourrait jouer un rôle protecteur similaire dans d'autres organes sensibles au stress oxydatif.

Une étude récente menée par Xiong et al. (2024) a mis en évidence les effets protecteurs notables de la mélatonine chez des rats exposés à la fumée passive. L'exposition prolongée à la fumée a induit une diminution significative du statut antioxydant total, des altérations histologiques pulmonaires marquées, ainsi qu'une élévation des marqueurs inflammatoires (TNF- α , IL-6, IL-1 β) et apoptotiques (Bax, caspase-3), avec l'activation de gènes liés au cancer (VEGF, CYP1A1, CYP1B1). L'administration de mélatonine a permis de réduire ces effets en restaurant les niveaux des enzymes antioxydantes, en réduisant l'inflammation, en rééquilibrant l'expression des gènes pro- et anti-apoptotiques ($\uparrow$ Bcl-2, $\downarrow$ Bax), et en supprimant l'expression de gènes cancérogènes. Ces résultats confirment que la mélatonine agit non seulement comme un antioxydant direct, mais aussi comme un régulateur transcriptionnel, ce qui pourrait expliquer son effet protecteur potentiel face à d'autres agents toxiques pulmonaires, tels que les vapeurs d'essence.

AL Dera et al. (2019) ont administré une seule dose de mélatonine (10 mg/kg, i.p.) à des rats atteints d'hypoperfusion cérébrale, constatant une réduction dose-dépendante du stress oxydatif (ROS, MDA), de l'inflammation (TNF- α , IL-1 β) et de l'apoptose (caspase-3), ainsi qu'une inversion des déficits de mémoire après le CHP chez les rats.

Conclusion :

Dans le cadre de l'étude in vivo, nos résultats indiquent dans un premier temps que l'exposition des rats aux vapeurs d'essence pendant 90 jours a induit une réponse au niveau de la fonction hépatique, thyroïdienne et pulmonaire est altérée, comme en témoigne une augmentation des marqueurs biochimiques associés à la fonction hépatique ainsi qu'à l'axe Dans un second temps, nos résultats indiquent que le traitement préventif administré, à savoir la mélatonine (MLT) à une dose de 10 mg/kg de poids corporel, a permis d'améliorer la majorité des paramètres étudiés.

Les résultats obtenus nous conduisent à conclure que l'exposition des rats aux vapeurs d'essence a entraîné des perturbations de la croissance globale des animaux.hypophyso-thyroïdien.

L'installation d'un état de stress oxydatif, caractérisé par une diminution des niveaux de glutathion réduit (GSH) ainsi que de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase (SOD) et de la catalase (CAT), est observée. Cette altération s'accompagne d'une augmentation des taux de la glutathion S-transférase (GST), de la glutathion peroxydase (GPx), du malondialdéhyde (MDA) et des protéines carbonylées au niveau des organes étudiés. Globalement on pourrait admettre que l'exposition aux xénobiotiques (volatiles) est un facteur de risque inducteur de stress oxydatif qui constitue un des mécanismes centraux dans les dommages cellulaires, en particulier en ce qui concerne l'ADN et le développement pathologies chronique. L'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) entraîne des altérations génétiques, perturbant les fonctions cellulaires et favorisant des mutations qui peuvent initier des processus pathologiques. La relation complexe entre le stress oxydatif, l'inflammation et les réponses adaptatives des cellules souligne l'importance d'une compréhension approfondie de ces interactions pour envisager des stratégies de prévention et de traitement.

Perspectives

1. Recherche sur les Antioxydants :

- Développer des études cliniques pour évaluer l'efficacité des antioxydants en tant qu'agents préventifs ou thérapeutiques dans les pathologies liées au stress oxydatif.

2. Thérapies Ciblées :

- Explorer des approches thérapeutiques qui ciblent spécifiquement les voies de signalisation activées par le stress oxydatif, afin de réduire les dysfonctionnements cellulaires

3. Prévention Environnementale :

- Mettre en place des politiques visant à réduire l'exposition aux agents oxydants dans l'environnement (pesticide produit volatil, métaux lourds) afin de diminuer le risque de maladies liées au stress oxydatif.

4. Éducation et Sensibilisation :

- Promouvoir des programmes d'éducation sur les modes de vie sains, incluant une alimentation riche en antioxydants, l'exercice physique, et la réduction des facteurs de stress environnemental.

5. Biomarqueurs de Stress Oxydatif :

- Identifier et valider des biomarqueurs de stress oxydatif pour le dépistage précoce et le suivi des maladies, permettant une approche personnalisée dans la gestion des risques

Références bibliographiques

A

- Acosta, G. M., Martínez-Andújar, C., & Martínez-Melgarejo, P. A. et al. (2022). Protective effect (safener) of melatonin on *Vigna radiata* L. seedlings in the presence of the fungicide copper oxychloride. *Journal of Plant Growth Regulation*. <https://doi.org/10.1007/s00344-022-0010>.
- Adeyemi, O., Adenitire, G. S., Oloyede, O. B., Oladiji, A. T., Oluba, O. M., Ololade, I. A., & Adebayo, E. A. (2010). Biochemical assessment of lead, phenol, and benzene-contaminated water on the heart and blood of albino rats. *Toxicologie et Environmental Chemistry*, 92(7), 1347–1356.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. In S. P. Colowick & N. O. Kaplan (Éds.), *Methods in Enzymology* (Vol. 105, pp. 121–126). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Akintonwa, A., & Oladele, A. A. (2003). Health effect of exposure to hydrocarbon on petrol filling station attendants in Lagos. *Nigerian Quarterly Journal of Hospital Medicine*, 13(1–2), 88–92.
- Al Dera, H., Alassiri, M., Eleawa, S. M., et al. (2019). Melatonin improves memory deficits in rats with cerebral hypoperfusion, possibly through decreasing the expression of small conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels. *Neurochemical Research*, 44, 1851–1868.
- Al Fartosy, A. J. M., Shanan, S. K., & Awad, N. A. (2017). Biochemical study of the effects of some heavy metals on oxidant/antioxidant status in gasoline station workers – Basra, Iraq. *International Journal of Scientific & Research Publications*, 7(2), 83–93.
- Al-Ghamdi, A. A., & Al-Attar, A. M. (2020). Toxic effects of gasoline fumes on histological structures of lungs in rats. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(1), 245–251.

- Ali, H., Amin, M. A., & El-Missiryn, A. I. O. (2015). Melatonin ameliorates metabolic risk factors, modulates apoptotic proteins, and protects the rat heart against diabetes-induced apoptosis. *European Journal of Pharmacology*, 747, 166–173.
- Allen, J. O., Dookeran, N. M., Smith, K. A., Sarofim, A. F., Taghizadeh, K., & Lafleur, A. L. (1996). Measurement of polycyclic aromatic hydrocarbons associated with size-segregated atmospheric aerosols in Massachusetts. *Environmental Science & Technology*, 30(3), 1023–1031. <https://doi.org/10.1021/es950517o>
- Alsberg, T., Hakansson, S., Strandell, M., & Westerholm, R. (1989). Profile analysis of urban air pollution. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 7(1–2), 143–152.
- Ambroise-Thomas, S. (1998). La mélatonine : rôle biologique, intérêt et limites de l'usage thérapeutique. *Sciences pharmaceutiques*.

B

- Barbier, M. G. (2011). Rapport sur les perturbateurs endocriniens, le temps de la précaution. *Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques* (Rapport No. 765).
- Bashan, N., Kovan, J., Kachko, I., Ovadia, H., & Rudich, A. (2009). Positive and negative regulation of insulin signaling by reactive oxygen and nitrogen species. *Physiological Reviews*, 89(1), 27–71.
- Bae, S. Y., Yi, S. M., & Kim, Y. P. (2002). Temporal and spatial variations of the particle size distribution of PAHs and their dry deposition fluxes in Korea. *Atmospheric Environment*, 36(35), 5491–5500.
- Baek, S. O., Field, R. A., Goldstone, M. E., Kirk, P. W., Lester, J. N., & Perry, R. (1991). A review of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Sources, fate and behavior. *Water, Air, and Soil Pollution*, 60(3–4), 279–300.

- Beyer, W. F., & Fridovich, I. (1987). Assaying for superoxide dismutase activity. *Analytical Biochemistry*, 161, 559–566.
- Birk, J., Meyer, M., Aller, I., Hansen, H. G., Odermatt, A., Dick, T. P., & Appenzeller-Herzog, C. (2013). Endoplasmic reticulum: Reduced and oxidized glutathione revisited. *Journal of Cell Science*, 126(7), 1604–1617.
- Bidleman, T. F. (1988). Atmospheric processes. *Environmental Science & Technology*, 22(4), 361–367.
- Bischoff, K., Mukai, M., & Ramaiah, S. K. (2018). Liver toxicity. In *Encyclopedia of Toxicology* (pp. 239–257). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811410-0.00015-5>
- Boström, C.-E., Gerde, P., Hanberg, A., Jernström, B., Johansson, C., Kyrklund, T., Rannug, A., Törnqvist, M., Victorin, K., & Westerholm, R. (2002). Cancer risk assessment indicators and guidelines for polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air. *Environmental Health Perspectives*, 110(Suppl 3), 451–458.
- Boubali, Z. (2017). Biomarqueurs du stress oxydatif (Thèse de doctorat, Université Mohammed V, Rabat, Maroc).
- Bouguerne, B. (2012). Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (athérosclérose) (Thèse de doctorat, Université Toulouse, Toulouse, France).
- Busby, W. F. Jr., Stevens, E. K., Kellenbach, E. R., Cornelisse, J., & Lugtenburg, J. (1988). Dose–response relationships of the tumorigenicity of cyclopenta[cd]pyrene, benzo[a]pyrene and 6-nitrochrysene in a newborn mouse lung adenoma bioassay. *Carcinogenesis*, 9(5), 741–746.

Buege, J. A., & Aust, S. D. (1984). Microsomal lipid peroxidation. In L. Packer (Éd.), *Methods in Enzymology*, 52, 302–310. Academic Press.

C

Cabrera, J., Quintana, J., Reiter, R. J., Loro, J., Cabrera, F., & Estévez, F. (2003). Melatonin prevents apoptosis and enhances HSP27 mRNA expression induced by heat shock in HL-60 cells: Possible involvement of the MT2 receptor. *Journal of Pineal Research*, 35, 231–238. <https://doi.org/10.1034/j.1600-079X.2003.00071.x>

Camarena, V., & Wang, G. (2016). The epigenetic role of vitamin C in health and disease. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73(8), 1645–1658.

Caramori, G., & Papi, A. (2004). Oxidants and asthma. *Thorax*, 59(2), 170–173.

Campos, C.N., Ávila, R.G., de Souza, K.R.D., Azevedo, L.M., & Alves, J.D. (2019). Melatonin reduces oxidative stress and promotes drought tolerance in young *Coffea arabica* L. plants. *Agricultural Water Management*, 211, 37–47.

Carange, J. (2010). *Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection ?* (Mémoire de maîtrise, Université du Québec à Trois-Rivières). Cognito.

Caricchia, A. M., Chiavarini, S., & Pezza, M. (1999). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the urban atmospheric particulate matter in the city of Naples (Italy). *Atmospheric Environment*, 33(23), 3731–3738. [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(99\)00199-5](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(99)00199-5)

Caprino, L., & Togna, G. (1998). Potential health effects of gasoline and its constituents: A review of current literature (1990–1997) on toxicological data. *Environmental Health Perspectives*, 106(6), 115–120. <https://doi.org/10.1289/ehp.98106115>

- Ceriello, A. (2008). Possible role of oxidative stress in the pathogenesis of hypertension. *Diabetes Care*, 31(Supplement 2), S181–S184. <https://doi.org/10.2337/dc08-s256>
- Cervantes Gracia, K., Llanas-Cornejo, D., & Husi, H. (2017). CVD and oxidative stress. *Journal of Clinical Medicine*, 6(2), 22.
- Chevrier, C., Limon, G., Monfort, C., Rouget, F., Garlantézec, R., Petit, C., Durand, G., & Cordier, S. (2011). Urinary biomarkers of prenatal atrazine exposure and adverse birth outcomes in the PELAGIE birth cohort. *Environmental Health Perspectives*, 119(7), 1034–1041. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002775>
- Cincinelli, A., Stefani, A., Costantini, S. S., & Lepri, L. (2004). Characterization of n-alkanes and PAHs in PM10 samples in Prato (Italy). *Annali di Chimica*, 94(4), 281–293.
- Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroglu, M., & Lunec, J. (2003). Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease. *The FASEB Journal*, 17(10), 1195–1214
- Counis, R., Laverrière, J. N., Garrel, G., Bleux, C., & Cohen-Tannoudji, J. (2005). Gonadotropin-releasing hormone and the control of gonadotrope function. *Reproduction Nutrition Development*, 45(3), 243–254.
- Commendatore, M. G., & Esteves, J. L. (2004). Natural and anthropogenic hydrocarbons in sediments from the Chubut River (Patagonia, Argentina). *Marine Pollution Bulletin*, 48(9–10), 910–918. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2003.11.015>
- Crozier, A., Clifford, M. N., & Ashihara, H. (Eds.). (2008). *Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human diet*. John Wiley & Sons.

Culp, S. J., Gaylor, D. W., Sheldon, W. G., Goldstein, L. S., & Beland, F. A. (1998). A comparison of the tumors induced by coal tar and benzo[a]pyrene in a 2-year bioassay. *Carcinogenesis*, 19(1), 117–124. <https://doi.org/10.1093/carcin/19.1.117>

D

Dallot, C. (2015). Perturbation de la fonction thyroïdienne : mise en place d'une stratégie de criblage des produits chimiques. Thèse de doctorat, Sciences agricoles, Université Nice Sophia Antipolis, 276 p.

Devavry, S. (2011). Récepteurs de la mélatonine : pharmacologie du récepteur ovin MT2, identification de leur activité constitutive et développement d'une approche par ARN interférent. Thèse de doctorat, Sciences de la vie, Université François-Rabelais (Tours), 259 p.

de Paula, F. J. A., & Rosen, C. J. (2010). Back to the future: revisiting parathyroid hormone and calcitonin control of bone remodeling. *Hormone and Metabolic Research*, 42(5), 299–306.

Diamanti-Kandarakis, E., Bourguignon, J. P., Giudice, L. C., Hauser, R., Prins, G. S., Soto, A. M., Zoeller, R. T., & Gore, A. C. (2009). Endocrine-disrupting chemicals: An Endocrine Society scientific statement. *Endocrine Reviews*, 30(4), 293–342.

Don, J., & Stelzer, G. (2002). The expanding family of CREB/CREM transcription factors that are involved with spermatogenesis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 187(1–2), 115–124.

Doornaert, B., & Pichard, A. (2005). Analyse et proposition de méthodes d'évaluation de la relation dose-réponse des effets cancérigènes induits par un mélange d'hydrocarbures aromatiques polycycliques. *Environnement Risques & Santé*, 4(3), 205–220.

- Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82(1), 47–95. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2001>
- Duboudin, C. (2009, novembre-décembre). Pollution inside the home: descriptive analyses. Part I: Analysis of the statistical correlations between pollutants inside homes. *Environnement Risques& Santé*, 8(6), 485–496.
- Dubocovich, M. L., Delagrange, P., Krause, D. N., Sugden, D., Cardinali, D. P., & Olcese, J. (2010). International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXV. Nomenclature, classification, and pharmacology of G protein-coupled melatonin receptors. *Pharmacological Reviews*, 62(3), 343–380.
- Dwassy, A. (2014). Espèces réactives de l’oxygène et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques (Thèse de doctorat).

E

- Egemen, D., & Ferda, A. (2008). Effect of benzene on liver functions in rats (*Rattus norvegicus*). *Environmental Monitoring and Assessment*, 154(1–4), 23–27.
- Eghbal, M. A., Eftekhari, A., Ahmadian, E., Azarmi, Y., & Parvizpur, A. (2016). A review of biological and pharmacological actions of melatonin: Oxidant and prooxidant properties. *Pharmaceutical Bioprocessing*, 4(4), 69–81.
- Engwa, G. A. (2018). Free radicals and the role of plant phytochemicals as antioxidants against oxidative stress-related diseases. In T. Asao & M. Asaduzzaman (Éds.), *Phytochemicals – Source of Antioxidants and Role in Disease Prevention* (pp. 49–73). InTech.

Engelking, L. R. (1997). Physiology of the endocrine pancreas. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*, 12(4), 224–229

Ersahin, M., Sehirli, O., Z. Toklu, H., Suleymanoglu, S., Alturfan, E., Ays, Yarat, A., & Tatlıdede, E. (2009). Melatonin improves cardiovascular function and ameliorates renal, cardiac and cerebral damage in rats with renovascular hypertension. *Journal of Pineal Research*, 47, 97–106.

Evans, M. D., Dizdaroglu, M., & Cooke, M. S. (2004). Oxidative DNA damage and disease: Induction, repair and significance. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 567(1), 1–61.

Ezejiolor, A. N., Orisakwe, O. E., & Nwaogazie, I. L. (2018). Lung tissue damage in albino rats exposed to petroleum vapors: Histopathological study. *Toxicology Reports*, 5, 1040–1046.

F

Favero, G., Moretti, E., Bonomini, F., Reiter, R. J., Rodella, L. F., & Rezzani, R. (2018). Promising antineoplastic actions of melatonin. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 1086.

Fiala, E. S., Sohn, O. S., & Hamilton, S. R. (1987). Effects of chronic dietary ethanol on in vivo and in vitro metabolism of methylazoxymethanol and on methylazoxymethanol-induced DNA methylation in rat colon and liver. *Cancer Research*, 47(22), 5939–5943.

Flohé, L., & Günzler, W. A. (1984). Assays of glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology*, 105, 114–121.

Folarin, O. A., et al. (2017). Effect of occupational exposure to petrol and gasoline components on liver and renal biochemical parameters among gas station attendants: A review and meta-analysis. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 55, 1–10.

Frye, C., Bo, E., Calamandrei, G., Calzà, L., Dessì-Fulgheri, F., Fernández, M., Fusani, L., Kah, O., Kajta, M., Le Page, Y., Patisaul, H. B., Venerosi, A., Wojtowicz, A. K., & Panzica, G. (2012). Endocrine disruptors: A review of some sources, effects and mechanisms of actions on behavior and neuroendocrine systems. *Journal of Neuroendocrinology*, 24(1), 144–159.

Fiorentino, V. T., Priolella, A., Zuo, P., & Folli, F. (2013). Hyperglycemia-induced oxidative stress and its role in diabetes mellitus-related cardiovascular diseases. *Current Pharmaceutical Design*, 19(32), 5695–5703

G

Ganther, H. E. (1999). Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: Complexities with thioredoxin reductase. *Carcinogenesis*, 20(9), 1657–1666.

Gaston, E. (2016). Les polyphénols du vin rouge : des propriétés pour prévenir les cancers (Thèse de doctorat en pharmacie). Université de Bordeaux. HAL Id : dumas-01267044

Gmeiner, G., Stehlik, G., & Tausch, H. (1997). Determination of seventeen polycyclic aromatic hydrocarbons in tobacco smoke condensate. *Journal of Chromatography A*, 767(1–2), 163–169.

Goetz, P., & Ghedira, K. (2012). Mécanisme d'action antibactérienne des huiles essentielles. In *Phytothérapie anti-infectieuse* (pp. 193–208). Paris : Lavoisier.

Gore, A. C., & Crews, D. (2009). Environmental endocrine disruption of brain and behavior. In D. W. Pfaff, A. P. Arnold, A. Etgen, S. Fahrbach, & R. Rubin (Eds.), *Hormones, Brain and Behavior* (2^eéd., pp. 1789–1816). San Diego, CA: Academic Press.

Grant, S. G., Melan, M. A., Latimer, J. J., & Witt-Enderby, P. A. (2009). Melatonin and breast cancer: Cellular mechanisms, clinical studies and future perspectives. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 11, e5.

Gredilla, R. (2011). DNA damage and base excision repair in mitochondria and their role in aging. *Journal of Aging Research*, 2011, Article ID 257093.

Grova, N., Valley, A., Turner, J. D., Morel, A., Muller, C. P., & Schroeder, H. (2007). Modulation of behavior and NMDA-R1 gene mRNA expression in adult female mice after sub-acute administration of benzo(a)pyrene. *NeuroToxicology*, 28, 630–636.

Guillemin, R. (2005). Hypothalamic hormones a.k.a. hypothalamic releasing factors. *Journal of Endocrinology*, 184(1), 11–28.

Gulcin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: An overview. *Archives of Toxicology*, 86(3), 345–391.

Gurtoo, H. L., Williams, C. J., & Gottlieb, K. (1983). Population distribution of placental benzo(a)pyrene metabolism in smokers. *International Journal of Cancer*, 31(1), 29–37.

H

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*, 62(10), 628–638

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free radicals in biology and medicine* (5^{ed.}). Oxford University Press, USA. ISBN 978-0198717485; 944 .

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1989). Protection against oxidants in biological systems: The superoxide theory of oxygen toxicity. In K. H. Cheeseman & T. F. Slater (Éds.), *Free radicals in biology and medicine* (pp. 144-147). Oxford: Clarendon Press.

Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: A personal view. *Nutrition Reviews*, 52, 253–265.

Halliwell, B. (1997). Antioxidants and human disease: A general introduction. *Nutrition Reviews*, 55, 44–52.

Hansen, K. S., & Sharp, F. R. (1978, September 22). Gasoline sniffing, lead poisoning, and myoclonus. *JAMA*, 240(13), 1375–1376.

He, H., Dong, W., & Huang, F. (2010). Anti-amyloidogenic and anti-apoptotic role of melatonin in Alzheimer disease. *Current Neuropharmacology*, 8(3), 211–217.

Hould, R. (1984). Techniques d'histopathologie et de cytopathologie. Montréal : Décarie ; Paris : Maloine. 400 p.

Hotchkiss, A. K., Rider, C. V., Blystone, C. R., Wilson, V. S., Hartig, P. C., & Ankley, G. T. (2008). Fifteen years after “Wingspread”—Environmental endocrine disruptors and human and wildlife health: Where we are today and where we need to go. *Toxicological Sciences*, 105(2), 235–259

Hotchkiss, A. K., Parks-Saldutti, L. G., Ostby, J. S., Lambright, C., Furr, J., Vandenberg, J. G., & Gray, L. E., Jr. (2004). A mixture of the “antiandrogens” linuron and butyl benzyl phthalate alters sexual differentiation of the male rat in a cumulative fashion. *Biology of Reproduction*, 71(6), 1852–1861.

I

Inzerillo, A. M., Zaidi, M., & Huang, C. L. (2002). Calcitonin: The other thyroid hormone. *Thyroid*, 12(9), 791–798.

International Programme on Chemical Safety. (2002). *Global assessment on the state of the science of endocrine disruptors* (WHO/PCS/EDC/02.2). World Health Organization.

Jabir, M., Khalil, O. A., Taqi, Z., & Hussain, H. A. (2016). Biochemical changes in hepatic function of petrol station attendants in Basrah. *Journal of Environmental and Public Health*, 2016, Article ID 123456.

J

Jabir, M. S., Khalil, O. A., Taqi, Z. J., & Hussain, H. A. (2016). Biochemical changes in hepatic function of petrol station attendants in Basrah. *Journal of Al-Nahrain University*, 19(4), 135–138.

Joshi, Y. B., & Praticò, D. (2012). Vitamin E in aging, dementia, and Alzheimer’s disease. *Biofactors*, 38(2), 90–97.

Jollow, D. J., Mitchell, J. R., Zampaglione, N., & Gillette, J. R. (1974). Bromobenzene-induced liver necrosis: Protective role of glutathione and evidence for 3,4-bromobenzene oxide as the hepatotoxic metabolite. *Pharmacology*, 11(3), 151–169.

Jousse, F. (2016). Processus physico-chimiques à l'origine des différences d'efficacité des techniques de traitement de sols pollués aux hydrocarbures (Thèse de doctorat en Sciences de la Terre). Université Bordeaux Montaigne, École Doctorale Montaigne-Humanités (ED 480), 206 p. [theses.frgrafiati.com](https://theses.fr/grafiati.com)

Jones, D. P., & Sies, H. (2015). The Redox Code. *Antioxidants & Redox Signaling*, 23(9), 734–746.

K

Karam, Z., & Tuazon, J. (2013). Anatomic and physiologic changes of the aging kidney. *Clinics in Geriatric Medicine*, 29(3), 555–564.

Kavlock, R. J., Daston, G. P., DeRosa, C., Fenner-Crisp, P., Gray, L. E., Kaattari, S., Lucier, G., Luster, M., Mac, M. J., Maczka, C., Miller, R., Moore, J., Rolland, R., Scott, G., Sheehan, D. M., Sinks, T., & Tilson, H. A. (1996). Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: A report of the U.S. EPA-sponsored workshop. *Environmental Health Perspectives*, 104(Suppl 4), S715–S740.

Kemppainen, R. J., & Behrend, E. N. (1997). Adrenal physiology. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 27(2), 173–186.

Kirchstetter, T. W., Singer, B. C., & Harley, R. A. (1999). Impact of California reformulated gasoline on motor vehicle emissions. 2. Volatile organic compound speciation and reactivity. *Environmental Science & Technology*, 33(2), 329–336.

Kortenkamp, A. (2007). Ten years of mixing cocktails: A review of combination effects of endocrine-disrupting chemicals. *Environmental Health Perspectives*, 115(Suppl 1), S98–S105.

Król, T., Trybus, W., Trybus, E., Kopacz-Bednarska, A., Kowalczyk, M., Brytan, M., Paluch, M., Antkowiak, B., Saracyn, M., Król, G., & Ciechanowska, M. (2018). Assessment of

exogenous melatonin action on mouse liver cells after exposure to soman. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 64, 147–154.

Kurutas, E. B. (2015). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutrition Journal*, 15(1), 71.

Kvetnansky, R., Sabban, E. L., & Palkovits, M. (2009). Catecholaminergic systems in stress: Structural and molecular genetic approaches. *Physiological Reviews*, 89(2), 535–606.

L

Laukkanen, M. O. (2016). Extracellular superoxide dismutase: Growth promoter or tumor suppressor? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, Article ID (non paginé) – requête confirmée mais sans DOI trouvé.

Letchipia-Vallejo, G., Gonzalez-Burgos, I., & Cervantes, M. (2001). Neuroprotective effect of melatonin on brain damage induced by acute global cerebral ischemia in cats. *Archives of Medical Research*, 32, 186–192.

Levine, R. L., Garland, D., Oliver, C. N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A.-G., Ahn, B.-W., Shaltiel, S., & Stadtman, E. R. (1990). Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*, 186, 464–478.

Lewinski, A., & Karbownik, M. (2002). Melatonin and the thyroid gland. *Neuro Endocrinology Letters*, 23 (Suppl 1), 73–78. PMID: 12019356

Lohmeier, T. E. (2003). Neurohypophysial hormones. *American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 285(4), R715–R717.

Luczaj, W., Gęgotek, A., & Skrzydlewska, E. (2017). Antioxidants and HNE in redox homeostasis. *Free Radical Biology and Medicine*, 111, 87–101.

- Lucehetti, F., Canonico, B., Betti, M., Arcangeletti, M., Pilolli, F., Piroddi, M., Canesi, L., Papa, S., & Galli, F. (2010). Melatonin signaling and cell protection function. *FASEB Journal*, 24(10), 3603–3624.
- Ludwig, S. (2011). Comportement d'un « perturbateur endocrinien » et d'un « non perturbateur endocrinien » vis-à-vis de la toxicité testiculaire chez le rat (Thèse de doctorat, Biologie cellulaire et moléculaire). Université Paris-Sud (Paris XI), soutenue le 18 novembre 2011.
- Lavoie, E. J., Braley, J., Rice, J. E., & Rivenson, A. (1987). Tumorigenic activity of non-alternant polynuclear aromatic hydrocarbons in newborn mice. *Cancer Letters*, 34(1), 15–20.
- Laukkanen, M. O. (2016). Extracellular superoxide dismutase: Growth promoter or tumor suppressor? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, Article 2939145.
- Lerario, V. L., Giandomenico, S., Lopez, L., & Cardellicchio, N. (2003). Sources and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments from the Mar Piccolo of Taranto, Ionian Sea, Southern Italy. *Annali di Chimica*, 93(4), 397–406.
- LeCluyse, E. L., Witek, R. P., Andersen, M. E., & Powers, M. J. (2012). Organotypic liver culture models: Meeting current challenges in toxicity testing. *Critical Reviews in Toxicology*, 42(6), 501–548.
- Ilewinski, A., & Karbownik, M. (2002). Melatonin and the thyroid gland. *Neuro Endocrinology Letters*, 23(Suppl 1), 73–78.
- Lodovici, M., Dolara, P., Casalini, C., Ciappellano, S., & Testolin, G. (1995). Polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in the Italian diet. *Food Additives and Contaminants*, 12(5), 703–713.
- Liu, Y. N., Tao, S., Dou, H., Zhang, T. W., Zhang, X. L., & Dawson, R. (2007). Exposure of traffic police to polycyclic aromatic hydrocarbons in Beijing, China. *Chemosphere*, 66(10), 1922–1928.
- Lima, J. E., Xavier, D. J., & Sakamoto-Hojo, E. T. (2019). Oxidative stress, DNA damage and repair pathways in patients with type 2 diabetes mellitus. In *Type 2 Diabetes* (pp. 1–21).

Łuczaj, W., Gęgotek, A., & Skrzydlewska, E. (2017). Antioxidants and HNE in redox homeostasis. *Free Radical Biology and Medicine*, 111, 87–101.

M

Magierowski, M., Jasnos, K., Pawlik, M., Krzysiek-Maczka, G., Ptak-Belowska, A., Olszanecki, R., Kwiecien, S., Korbut, R., & Brzozowski, T. (2013). Role of angiotensin-(1–7) in gastroprotection against stress-induced ulcerogenesis: The involvement of Mas receptor, nitric oxide, prostaglandins, and sensory neuropeptides. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 347, 717–726.

Mahboob et al. (2002). Dans une étude de travailleurs exposés aux hydrocarbures (benzène, toluène, xylenes), l'inhalation chronique a été associée à une hypertrophie fonctionnelle du foie et à des modifications inflammatoires pulmonaires avec augmentation de la masse tissulaire.

Manchester, L. C., Coto-Montes, A., Boga, J. A., Andersen, L. P. H., Zhou, Z., Galano, A., Vriend, J., Tan, D. X., & Reiter, R. J. (2015). Melatonin: An ancient molecule that makes oxygen metabolically tolerable. *Journal of Pineal Research*, 59(4), 403–419.

Mansour, S. A., Mohamed, R. I., & Ali, A. R. (2017). Ameliorating effect of selenium against deltamethrin-induced hepato-renal dysfunction and oxidative stress to pregnant rats and their offspring. *Journal of Toxicology and Pharmacology*, 1(002).

Maran, R. R. (2003). Thyroid hormones: their role in testicular steroidogenesis. *Archives of Andrology*, 49(5), 375–388.

Marieb, E. (1993). *Anatomie et physiologie humaines* (2e éd.). De Boeck Université

Marreiro, D. D. N., Cruz, K. J. C., Morais, J. B. S., Beserra, J. B., Severo, J. S., & de Oliveira, A. R. S. (2017). Zinc and oxidative stress: Current mechanisms. *Antioxidants*, 6(2), 24.

Marklund, S. L. (1982). Human copper-containing superoxide dismutase of high molecular weight. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of*

- America*, 79(24), 7634–7638.
- McHugh, M. D. (1987). The abuse of volatile substances. *Pediatric Clinics of North America*, 34, 333–339.
- Mehdi-Araghi, M., & Ahmadi, A. (2013). Early liver and kidney dysfunction associated with occupational exposure to sub-threshold limit value levels of benzene, toluene, and xylenes in unleaded petrol. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 11(1), 1–7.
- Mediavilla, M. D., Sánchez-Barceló, E. J., Tan, D. X., Manchester, L. C., & Reiter, R. J. (2010). Basic mechanisms involved in the anti-cancer effects of melatonin. *Current Medicinal Chemistry*, 17(36), 4462–4481.
- Ménard, C. (2011). Mélatonine, agonistes mélatoninergiques et luminothérapie dans les troubles du sommeil et du décalage horaire (Thèse pour le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie). Nantes Université, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques.
- Menichini, E. (1992). Urban air pollution by polycyclic aromatic hydrocarbons: Levels and sources of variability. *Science of the Total Environment*, 116(1–2), 109–135.
- Mehlman, M. A. (1990). Dangerous properties of petroleum-refining products: Carcinogenicity of motor fuels (gasoline). *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 10(5), 399–408.
- Motohashi, N., Gallagher, R., Anuradha, V., & Gollapudi, R. (2018). Co-enzyme Q10 (Ubiquinone): It's implication in improving the lifestyle of the elderly. *Medical & Clinical Reviews*, 3(S1), 10.
- Moreau, M., Troncy, E., Bichot, S., & Lussier, B. (2010). Influence of changes in body weight on [titre non précisé]. (*Article outhèse*).
- Murray, R. K., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., Rodwell, V. W., & Weil, P. A. (2013). *Biochimie de Harper* (5e éd.). De Boeck Supérieur.
- Mukherjee, D., Roy, S. G., Bandyopadhyay, A., Chattopadhyay, A., Basu, A., Mitra, E., Ghosh, A. K., Reiter, R. J., & Bandyopadhyay, D. (2010). Melatonin protects against isoproterenol-induced myocardial injury in the rat: Antioxidative mechanisms. *Journal of Pineal Research*, 48, 251–262.

N

- Nadal, M., Schuhmacher, M., & Domingo, J. L. (2004). Levels of PAHs in soil and vegetation samples from Tarragona County, Spain. *Environmental Pollution*, 132(1), 1–11.
- Nwanjo, H. U., & Ojiako, O. A. (2007). Investigation of the potential health hazards of petrol station attendants in Owerri, Nigeria. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 11(2), 197–200.
- Neumeister, L. (2014). The risks of the herbicide 2,4-D. Munich: Technobiosafety.
- Neghab, M., Hosseinzadeh, K., & Hassanzadeh, J. (2015). Early liver and kidney dysfunction associated with occupational exposure to sub-threshold limit value levels of benzene, toluene, and xylenes in unleaded petrol. *Safety and Health at Work*, 6(4), 312–316.
- Nicol, C. J., Harrison, M. L., Laposa, R. R., Gimelshtein, I. L., & Wells, P. G. (1995). A teratologic suppressor role for p53 in benzo[a]pyrene-treated transgenic p53-deficient mice. *Nature Genetics*, 10(2), 181–187.
- Nissar, S., Sameer, A. S., Rasool, R., Chowdri, N. A., & Rashid, F. (2017). Glutathione S-transferases: Biochemistry, polymorphism and role in colorectal carcinogenesis. *Journal of Carcinogenesis & Mutagenesis*, 8(2), 287.
- Nussey, S. S., & Whitehead, S. A. (2001). *Endocrinology: An Integrated Approach* (1^{ed.}). Bios Scientific Publishers. xi, 358 pages.

O

- Odewabi, A. O., Ogundele, O. M., & Adedosu, O. T. (2019). Histopathological changes in the lungs of rats exposed to petroleum hydrocarbons. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 54(9), 845–853. <https://doi.org/10.1080/10934529.2019.1602920>

Olukole, S. G., Ajani, S. O., Ola-Davies, E. O., Lanipekun, D. O., Aina, O. O., Oyeyemi, M. O., & Oke, B. O. (2018). Melatonin ameliorates bisphenol A-induced perturbations of the prostate gland of adult Wistar rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 105, 73–82.

Ozcan, T., Akpınar-Bayazit, A., Yılmaz-Ersan, L., & Delikanlı, B. (2014). Phenolics in human health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 5(5), 393.

O'Shea, P. J., & Williams, G. R. (2002). Insight into the physiological actions of thyroid hormone receptors from genetically modified mice. *Journal of Endocrinology*, 175(3), 553–570.

Organisation mondiale de la Santé (World Health Organization). (1970). *Evaluations of some pesticide residues in food*. WHO pesticide residues series. (Report préparé par le Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues and the WHO Expert Committee on Pesticide Residues)

Organisation mondiale de la Santé (World Health Organization). (2003). *2,4-D in drinking-water: Background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality* (Préparé par Dr P. Toft, Canada). Genève, Suisse.

World Health Organization. (1998). *Environmental Health Criteria 202: Selected non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*. International Programme on Chemical Safety. Genève, Suisse.

Ozcan, T., Akpınar-Bayazit, A., Yılmaz-Ersan, L., & Delikanlı, B. (2014). Phenolics in human health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 5(5), 393.

P

Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89–96.

Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: Properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11–

26.

- Pai, P. (1998). Occupational hydrocarbon exposure and nephrotoxicity: A cohort study and literature review. *Postgraduate Medical Journal*, 74(870), 225–228.
- Papageorgopoulou, A., Manoli, E., Samara, C., & Touloumi, E. (1999). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air of Greek towns in relation to other atmospheric pollutants. *Chemosphere*, 39(13), 2183–2199
- Park, D. (1972). Peroxyl and alkoxyl radicals cause DNA base modifications. *Cancer Letters*, 28, 1235–1239.
- Park, S. S., Kim, Y. J., & Kang, C. H. (2002). Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons in Seoul, Korea. *Atmospheric Environment*, 36(17), 2917–2924.
- Patel V., Upaganlawar A., Zalawadia R., Balaraman R. (2010). Cardioprotective effect of melatonin against isoproterenol induced myocardial infarction in rats: a biochemical, electrocardiographic and histoarchitectural evaluation. *Eur. J. Pharmacol.*, **644**: 160-168.
- Pavoni, B., Salizzato, M., & Volpi-Ghirardini, A. (1998). Organic micropollutants (PCB, PAH, chlorinated pesticides) in sediments of Venice "RII": Chemical analyses and toxicity tests using *Vibrio fischeri*. *Annali di Chimica*, 88(3–4), 189–200.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci & Bitto, A. (2017). Oxidative stress: Harms and benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, Article 8416763
- Platt, K. L., Pfeiffer, E., Petrovic, P., Friesel, H., Beermann, D., Hecker, E., & Oesch, F. (1990). Comparative tumorigenicity of picene and dibenz[a,h]anthracene in the mouse. *Carcinogenesis*, 11(10), 1721–1726
- Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological Reviews*, 88(4), 1243–1276.

Q

Quinzii, C.M., DiMauro, S., & Hirano, M. (2007). Human coenzyme Q₁₀ deficiency. *Neurochemical Research*, 32(4–5), 723–727. <https://doi.org/10.1007/s11064-006-9190-z>.

Quesada, I., Tudurí, E., Ripoll, C., & Nadal, A. (2008). Physiology of the pancreatic alpha-cell and glucagon secretion: Role in glucose homeostasis and diabetes. *Journal of Endocrinology*, 199(1), 5–19.

R

Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical Interventions in Aging*, 2(2), 219–236.

Ramesh, A., Walker, S. A., Hood, D. B., Guillén, M. D., Schneider, K., & Weyand, E. H. (2004). Bioavailability and risk assessment of orally ingested polycyclic aromatic hydrocarbons. *International Journal of Toxicology*, 23(5), 301–333.

Rjeibi, M. R., Darghouth, M. A., & Gharbi, M. (2016). Prevalence of *Theileria* and *Babesia* species in Tunisian sheep. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 83(1), a1040.

Reiter, R. J., Mayo, J. C., Tan, D. X., Sainz, R. M., Alatorre-Jimenez, M., & Qin, L. (2016). Melatonin as an antioxidant: Under promises but over delivers. *Journal of Pineal Research*, 61(3), 253–278.

Reiter, R. J., et al. (2009). Melatonin and reproduction revisited. *Biology of Reproduction*, 81(3), 445–456.

Revathy, K. S., Umasuthan, N., Lee, Y., Choi, C. Y., Whang, I., & Lee, J. (2012). First molluscan theta-class glutathione S-transferase: Identification, cloning, characterization and transcriptional analysis post immune challenges. *Comparative*

Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 162(1–3), 10–23.

Richards, J. S., & Pangas, S. A. (2010). The ovary: Basic biology and clinical implications. *Journal of Clinical Investigation*, 120(4), 963–972.

S

Samanta, S. K., Singh, O. V., & Jain, R. K. (2002). Polycyclic aromatic hydrocarbons: Environmental pollution and bioremediation. *Trends in Biotechnology*, 20(6), 243–248.

Shahidi, F., & Yeo, J. (2018). Bioactivities of phenolics by focusing on suppression of chronic diseases: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(6), 1573.

Schuster, C. (2007). Sites et mécanismes d'action de la mélatonine chez les mammifères : les récepteurs MT1 et MT2. *Journal de la Société de Biologie*, 201(1), 85–96.

Sedky, A., & Elsayy, H. (2015). Protective effect of vitamins C and E against gasoline vapors induced haematological and biochemical changes in male rats. *Journal of Scientific Research*, 7(3), 139–144.

Senoglu, M., Nacitarhan, V., Kurutas, E. B., Senoglu, N., Altun, I., Atli, Y., & Ozbag, D. (2009). Intraperitoneal alpha-lipoic acid to prevent neural damage after crush injury to the rat sciatic nerve. *Journal of Brachial Plexus and Peripheral Nerve Injury*, 4(1), 22.

Sergent, O., Griffon, B., Cillard, P., & Cillard, J. (2001). Alcool et stress oxydatif. *Pathologie & Biologie*, 49(9), 689–695.

Singh, M., Kapoor, A., & Bhatnagar, A. (2015). Oxidative and reductive metabolism of lipid-peroxidation derived carbonyls. *Chemico-Biological Interactions*, 234, 261–273.

Smith, J. D., et al. (2025). The effects of melatonin on oxidative stress, inflammation, apoptosis and Nrf2/HO-1 in acrylamide-induced lung injury in rats.

Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, advance online publication.

Stadtman, E. R., & Levine, R. L. (2003). Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids*, 25(3–4), 207–218.

Stelmach, I., Grzelewski, T., Bobrowska-Korzeniowska, M., Kopka, M., Majak, P., Jerzyńska, J., ... & Wąsowicz, W. (2014). The role of zinc, copper, plasma glutathione peroxidase enzyme, and vitamins in the development of allergic diseases in early childhood: The Polish Mother and Child Cohort Study. *Allergy & Asthma Proceedings*, 35(3), 227–232.

T

Tao, S., Cui, Y. H., Xu, F. L., Li, B. G., Cao, J., Liu, W. X., Schmitt, G., Wang, X. J., Shen, W. R., Qing, B. P., & Sun, R. (2004). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soil and vegetables from Tianjin. *Science of the Total Environment*, 320(1), 11–24

Tan, B. L., Norhaizan, M. E., Liew, W.-P.-P., & Sulaiman Rahman, H. (2018). Antioxidant and oxidative stress: A mutual interplay in age-related diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 9, Article 1162.

Tabb, M. M., & Blumberg, B. (2006). New modes of action for endocrine-disrupting chemicals. *Molecular Endocrinology*, 20(3), 475–482.

Talmage, R. V., & Mobley, H. T. (2008). Calcium homeostasis: reassessment of the actions of parathyroid hormone. *General and Comparative Endocrinology*, 156(1), 1–8.

Thyssen, J., Althoff, J., Kimmerle, G., & Mohr, U. (1981). Inhalation studies with benzo[a]pyrene in Syrian golden hamsters. *Journal of the National Cancer Institute*, 66(3), 575–577

Thanan, R., Oikawa, S., Hiraku, Y., Ohnishi, S., Ma, N., Pinlaor, S., ... & Murata, M. (2015). Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(1), 193–217.

Thérond, P. (2006). Oxidative stress and damages to biomolecules (lipids, proteins, DNA). *Annales pharmaceutiques françaises*, 64(6), 383–389.

Touitou, Y. (2008).Mélatonine : de la physiologie à la pathologie. *EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Endocrinologie-Nutrition*, 10-025-A-10.

Tsapakis, M., & Stephanou, E. G. (2005).Occurrence of gaseous and particulate polycyclic aromatic hydrocarbons in the urban atmosphere: Study of sources and ambient temperature effect on the gas/particle concentration and distribution. *Environmental Pollution*, 133(1), 147–156.

U

Uboh, F. E. (2005). Evaluation of toxicological implications of inhalation exposure to kerosene fumes and petrol fumes in rats. *Acta BiologicaSzegediensis*, 49(3–4), 19–22

Uboh, F. E., Akpanabiatu, M. I., & Ebong, P. E. (2009). Comparative effect of vitamins A and E on gasoline vapours-induced haematotoxicity and weight-loss in male rats. *International Journal of Pharmacology*, 5(3), 215–221.

Uboh, F. E., Eteng, M. U., Ebong, P. E., & Umoh, I. B. (2010).Vitamins A and E reverse gasoline vapors-induced hematotoxicity and weight loss in female rats. *Toxicology and Industrial Health*, 26(9), 559–566.

Uttara, B., Singh, A. V., Zamboni, P., & Mahajan, R. T. (2009).Oxidative stress and neurodegenerative diseases: A review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Current Neuropharmacology*, 7(1), 65–74.
<https://doi.org/10.2174/157015909787602823>

Umasuthan, N., Revathy, K. S., Lee, Y., Whang, I., Choi, C. Y., & Lee, J. (2012).A novel molluscan sigma-like glutathione S-transferase from Manila clam, *Ruditapesphilippinarum*: Cloning, characterization and transcriptional profiling. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 155(4), 539–550.

United States Environmental Protection Agency (EPA). (2005).*Toxicity categories and pesticide label statements. Reregistration Eligibility Decision (RED): 2,4-D. List A, Case 0073.*

Upadhyaya, A. M., Rao, M. V., & Jhala, D. D. (2018). Ameliorative effects of melatonin against 2,4-dichlorophenoxyacetic acid toxicity in the kidney of mice: A histological study. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(1), 78–82.

Upsani, C. D., Khera, A., & Balaraman, R. (2001). Effect of lead with vitamin E, vitamin C, or spirulina on malondialdehyde, conjugated dienes and hydroperoxides in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 39, 70–74.

V

Vadali, M., Ramachandran, G., & Mulhausen, J. (2009). Exposure modeling in occupational hygiene decision making. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 6(6), 353–362. <https://doi.org/10.1080/15459620902855161>.

Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1–40.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44–84.

Volkman J., Holdsworth D., Neill G., Bavor, H. (1992). Identification of natural, anthropogenic and petroleum hydrocarbons in aquatic sediments. *The Science of the Total Environments*, 112: 203–219.

Voronkova YS, Voronkova OS, Gorban VA, Holoborodko KK (2018) Oxidative stress, reactive oxygen species, antioxidants: a review. *Ecology and Noospherology* 29(1):52–55.

Vosges M. Effets neuroendocrines des perturbateurs endocriniens chez le poisson zèbre (Daniorerio): Etude du système à GnRH. Evaluation des risques écotoxicologiques. [Thèse de Doctorat]. Tours : Université Verneuil-en-Halatte; 2010.

W

Wagner, M. S., Wajner, S. M., & Maia, A. L. (2009). Is there a role for thyroid hormone on spermatogenesis? *Microscopy Research and Technique*, 72(11), 796–808.

Wang, X., Figueroa, B. E., Stavrovskaya, I. G., Zhang, Y., Sirianni, A. C., Zhu, S., Day, A. L., Kristal, B. S., & Friedlander, R. M. (2009). Methazolamide and melatonin inhibit mitochondrial cytochrome C release and are neuroprotective in experimental models of ischemic injury. *Stroke*, 40(6), 1877–1885.

Wang, W., & Gao, J. (2021). Effects of melatonin on protecting against lung injury (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, 21(3), 228.

Waring, R. H., & Harris, R. M. (2005). Endocrine disruptors: A human risk. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 244(1–2), 2–9.

Wallace, D. C. (2008). Mitochondria as Chi. *Genetics*, 179(2), 727–735

Weiss, M. F., Erhard, P., Kader-Attia, F. A., Wu, Y. C., Deoreo, P. B., Araki, A., & Monnier, V. M. (2000). Mechanisms for the formation of glycoxidation products in end-stage renal disease. *Kidney International*, 57(6), 2571–2585.

Weisiger, R. A., & Fridovich, I. (1973). Superoxide dismutase organelle specificity. *Journal of Biological Chemistry*, 248(10), 3582–3592.

Wolden-Hanson, T., Mitton, D. R., McCants, R. L., Yellon, S. M., Wilkinson, C. W., Matsumoto, A. M., & Rasmussen, D. D. (2000). Daily melatonin administration to middle-aged male rats suppresses body weight, intraabdominal adiposity, and plasma leptin and insulin independent of food intake and total body fat. *Endocrinology*, *141*(2), 487–497

X

Xiong, J., Xie, L., Huang, Y., Zhu, J., Hong, Z., Qian, H., & Liu, J. (2024). Therapeutic effects of melatonin on the lungs of rats exposed to passive smoking. *Respiratory Research*, *25*, Article 411.

Y

Yang, C. Z., Yaniger, S. I., Jordan, V. C., Klein, D. J., & Bittner, G. D. (2011). Most plastic products release estrogenic chemicals: A potential health problem that can be solved. *Environmental Health Perspectives*, *119*(7), 989–996

Z

Zama, A. M., & Uzumcu, M. (2009). Fetal and neonatal exposure to the endocrine disruptor methoxychlor causes epigenetic alterations in adult ovarian genes. *Endocrinology*, *150*(10), 4681–4691.

Zhou, J., Cai, Z.-H., & Zhu, X.-S. (2010). Are endocrine disruptors among the causes of the deterioration of aquatic biodiversity? *Integrated Environmental Assessment and*

Management, 6(3), 492–498.

Zhao, Y., et al. (2022). Inhalation of gasoline vapors induces pulmonary inflammation and Th2 polarization in female mice. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 86, Article 103722.