

REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR –  
ANNABA



جامعة باجي مختار -  
عنابة

FACULTÉ DES SCIENCES  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE  
LABORATOIRE DE BIO SURVEILLANCE ENVIRONNEMENTALE

Thèse En vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat

Domaine : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Filière : SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : PHYSIOPATHOLOGIE

### Intitulé

Étude de l'effet indirect d'un régulateur de synthèse de l'éthylène  
« 1-Méthylcyclopropène » sur les actions métaboliques,  
biochimiques, et de détoxification des rats wistar.

Presentée par : **BOUKERCHE Sameh**

Directeur de thèse : Mr OUALI Kheireddine (Pr, Université Badji Mokhtar -  
Annaba)

Devant un jury composé de :

Pr. HABBACHI Wafa	Présidente	Université Badji Mokhtar - Annaba
Dr. TREA Fouzia	Examinatrice	Université Badji Mokhtar - Annaba
Dr. BOUZAHOUANE Hana	Examinatrice	Université de Souk - Ahras
Dr. BABA-AHMED Fedia	Examinatrice	Université d'El Taref

Année universitaire : 2023/2024

## Dédicaces

*À Mes Chers Neveux et Nièces*

*À Adem, Meriem, Yahia, Sarah, et Ahmed*

*Je dédie ce travail avec tout mon amour et ma plus grande affection. Vous, mes chers neveux et nièces, avez été une source infinie de joie, d'inspiration et de bonheur dans ma vie. J'espère sincèrement que mon engagement dans cette voie académique a pu vous servir de modèle, que mes efforts aient pu vous inspirer et vous montrer qu'avec détermination et persévérance, tout objectif peut être atteint.*

*En vous dédiant cette thèse, j'espère vous avoir transmis un exemple de dévouement, d'effort et de passion pour l'apprentissage et la poursuite de vos rêves. Ma plus grande aspiration est que vous soyez fiers, non seulement de ce travail, mais également des valeurs qu'il véhicule : la recherche de l'excellence, la ténacité et le désir constant d'apprendre et de grandir.*

*Que cette dédicace vous rappelle toujours que je vous porte dans mon cœur, que je crois en votre potentiel illimité et que je suis convaincue que vous accomplirez des merveilles dans vos propres chemins.*

*Avec tout mon amour, Votre tante adorée*

## Remerciement

*Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude envers mon directeur de thèse, Pr **Ouali Kheireddine**, pour sa guidance éclairée, son soutien inébranlable et ses précieux conseils tout au long de ce parcours académique. Son expertise été essentiels à l'aboutissement de ce travail de recherche. Mes remerciements vont également à l'ensemble de l'équipe du Laboratoire de Bio surveillance Environnementale pour avoir mis à ma disposition les ressources nécessaires pour mener à bien cette étude, ainsi qu'envers les membres du jury pour l'honneur qu'ils m'ont fait en évaluant ce travail.*

*Je tiens à dédier une reconnaissance toute particulière à mon père, **Brahim**, pour son soutien inconditionnel et son rôle déterminant dans la réalisation de cette thèse. Sa fierté pour mes accomplissements a été une source d'inspiration constante et son soutien financier a été essentiel pour couvrir tous les aspects nécessaires à cette recherche. Sa générosité et son sacrifice pour m'offrir les ressources nécessaires ont allégé le fardeau financier, me permettant ainsi de me concentrer pleinement sur mes recherches.*

*Ma gratitude infinie va également envers ma chère mère, **Nabila**, pour son soutien incommensurable, son amour inconditionnel et son dévouement sans faille tout au long de mon parcours académique et de la réalisation de cette thèse. Sa présence bienveillante, sa préoccupation constante pour mon bien-être, sa volonté de me voir réussir et son dévouement pour mon épanouissement personnel ont été des sources de réconfort et de motivation inestimables tout au long de cette aventure.*

*Je tiens à adresser mes remerciements les plus chaleureux à mes chers frère et sœurs **Amel, Sabrina, et Khaled** pour leur soutien inconditionnel, leur présence constante et leur encouragement tout au long de mon cheminement académique, particulièrement lors de la réalisation de cette thèse. Leur disponibilité pour rendre service, leur confiance en mes capacités et leur volonté infaillible de m'aider ont été une source de réconfort inestimable. Malgré les moments où j'ai dû me retirer pour étudier dans ma chambre pendant de longues heures, ils ont toujours manifesté leur soutien indéfectible, leur compréhension et leur encouragement sans faille.*

*Je remercie en particulier ma belle-famille pour leurs encouragements constant, les prières de **Dady et Dida** m'en font toujours chaud au cœur et me procure beaucoup de joie. Ainsi qu'ma belle-mère **Samira**, qui a toujours su trouver les bons mots pour m'encourager et me soutenir, avec une grande fierté et confiance en moi et en mes engagement. Je souhaite exprimer ma reconnaissance envers mon chère amie, collègue ; **Rania**, qui a été mon bras droit tout au long des travaux pratiques de cette thèse, son soutien tant physique que morale et sa présence été d'une immense aide. Son humour, et sa bienveillance a rendu cette expérience encore plus précieuse et riche en souvenirs chaleureux.*

*Au final, je voudrais exprimer une profonde gratitude envers mon mari, **Abdelnour** ; mon collègue, mon plus fidèle partenaire, pour son soutien indéfectible, sa présence réconfortante et son encouragement incommensurable depuis le début de ce parcours, Plus qu'un partenaire ; il a été mon roc. En tant que collègue, il a partagé avec moi les hauts et les bas de cette aventure, comprenant les défis et les sacrifices que cela impliquait. Lorsque les doutes et les moments de désespoir m'ont envahi, il a été là, présent à mes côtés, m'encourageant avec une conviction sans limites, me rappelant constamment que rien n'était impossible. Sa détermination à voir le meilleur en moi, sa patience et sa présence rassurante ont été des lueurs d'espoir pendant les moments de crise. Sa bienveillance, sa compréhension et sa foi indéfectible en mes capacités été un cadeau précieux et un des éléments moteurs qui ont nourri ma détermination à atteindre cet objectif.*

*Je suis reconnaissante envers chacune des personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à l'accomplissement de cette thèse. Merci du fond du cœur pour votre précieuse aide et votre soutien tout au long de ce voyage académique.*

## Communications

- 1er Séminaire International Perturbateurs Endocriniens Environnement & Reproduction (PEER 2021), Université Saad Dahlab, Blida, Algérie.

**Intitulé:** Effet reprotoxique d'un régime alimentaire contaminé au 1-méthylcyclopropène chez des rats wistar.

- The 32st international congress of the Tunisian Society of Biological Sciences (ATSB), Sousse, Tunisie.

**Intitulé:** Diminution de la steroïdogénèse et dommage testiculaire induite par la consommation indirecte et repetitive d'un inhibiteur de l'ethylene "1-methylcyclopropene" chez des rats wistar.

- La 3eme édition du Séminaire National Sciences d'Interfaces Chimie-Biologie (hybride), Université Mohamed Chérif Messadia, Soug Ahras, Algérie.

**Intitulé:** Stress Oxydant et Dommage Tissulaire Hépatique Induit par un Régime Alimentaire Contaminé avec le « 1-méthylcyclopropène » chez les Rats Wistar (Etude de 90 jours).

- Premier Colloque Doctoral National des Sciences Biologiques (CDNSB 2023), Université Saad Dahlab, Blida, Algérie.

**Intitulé:** Immunotoxicité et perturbation du profil hématologique induites par une consommation indirecte et sub-chronique du 1-méthylcyclopropène chez les rats wistar.

## Résumé

Le 1-méthylcyclopropène (1-MCP) est un régulateur de croissance des plantes (RCP) émergeant utilisé depuis les années 2000 en horticultures dans le but de minimiser les pertes postes récoltes quantitatives et qualitatives des fruits et légumes principalement climactériques tel que les pommes, les poires, les bananes, et les tomates. Il agit en bloquant l'effet de l'éthylène ; une hormone végétale responsable de la maturation et la sénescence des végétaux. Le 1-MCP retarde ainsi les processus physiologiques végétale tel que le changement de couleur, la fermeté, l'acidité, la fleuraison, la perte de feuilles et d'autres aspects de maturation des plantes. Ce qui retarde considérablement leur pourrissage, préserve leurs qualités nutritives et ainsi augmente leur temps de conservation et de stockage de plusieurs semaines à plusieurs mois d'où son intérêt socioéconomique. Dans le but de répondre à la demande croissante du marché intercontinentale des fruits et légumes, son utilisation ne cesse d'augmenter. Le problème qui se pose aujourd'hui est que le 1-MCP se métabolise en deux produits à savoir le 1-CMP et le 3-CMP déjà classés tant que cancérigènes et mutagènes, ces derniers sont des produits moins volatils que le 1-MCP et se lie encore plus avec les tissus des végétaux traités avec le 1-MCP, d'autre part, dès le 1-MCP se présente sous forme de poudre qui, une fois diluée dans l'eau se transforme en gaz qui se dépose et enveloppe les tissus des fruits et légumes et donc des résidus de ce dernier ou bien de ces métabolites peuvent être ingérés lors de la consommation des produits traités, ces derniers peuvent être encore plus toxiques que le produit original.

De plus, des doses de MRL et d'ADI qui sont autorisées sont très faibles en les comparant avec des produits phytosanitaires déjà prouvés d'être dangereux tel que le CIPC. D'autre part ; les pays les plus utilisateurs de ce produit sont les pays exportateurs des fruits et légumes hors saison tel que les pays africains et tropicaux, les produits provenant de ces pays possèdent des taux très élevés de pesticides qui dépassent les niveaux autorisés ; ces derniers ne se munissent

pas de système de contrôle des résidus, les techniques correctes de manipulation et les pratiques de protection sont défectueux ou absents comme l'a déclaré par l'UE et la FAO. D'autre part ; plusieurs études ont montré que les RCPs ayant un mode d'action similaire à celui du 1-MCP tel que l'éthéphon avait des effets toxiques au niveau du foie, des reins, des poumons, des gonades et du cerveau. Les RCPs agissent principalement par le biais du stress oxydant. En fait aucune étude sur l'effet potentiellement toxique du 1-MCP sur les tissus mammifères n'a été réalisée jusqu'à présent. Ainsi l'objectif de la présente étude est d'évaluer l'effet reprotoxique et hépatotoxique et sur le système antioxydant du 1-MCP chez le rat wistar. Pour ce faire on essaye de mimer l'exposition et l'ingestion de résidus de 1-MCP lors de la consommation de fruits et légumes traités. Pour ce faire on a créé un régime alimentaire expérimental à base de pomme et de faibles doses de 1-MCP qui a été consommé par les rats pendant une période de 90 jours. À la fin de l'expérience, nous avons mesuré le poids corporel, hépatique et testiculaire, les biomarqueurs biochimiques du foie (activités sériques de l'ASAT et de l'ALAT) ainsi que les taux de bilirubine, les biomarqueurs biochimiques rénaux (créatinine, urée, acide urique), le profil lipidique (cholestérol et triglycérides) et le profil glucidique (glucose), le taux de l'hormone sexuelle mâle (testostérone sérique), le système antioxydant (taux de GSH, activités de GST, GPx, CAT et SOD) ainsi que le produit final de peroxydation lipidique (niveaux de MDA) au niveau du foie et des testicules ; On a également calculé l'OSI et réalisé des coupes colorées à l'hématoxyline et à l'éosine pour observer les changements histopathologiques du foie et des gonades.

Les résultats ont révélé que le régime alimentaire contaminé par du 1-MCP a induit un stress oxydatif dans le foie et a épuisé l'activité enzymatique générale du système antioxydant, notamment GST, GPx, CAT et SOD, et l'OSI des rats traités au 1-MCP était significativement élevé. Le 1-MCP a également augmenté les niveaux de MDA, suggérant une peroxydation lipidique, mais sans modifications observables au niveau des hépatocytes ou des niveaux

sériques modifiés d'AST et d'ALT. Néanmoins le profil lipidique été perturbé causé par l'interférence intrinsèque du 1-MCP avec les acides gras et la synthèse du cholestérol et des triglycérides. D'autres part ; le 1-MCP a agi comme un perturbateur endocrinien en bloquant la synthèse de la testostérone et comme reprotoxique en modifiant l'organisation architecturale et la masse des spermatozoïdes au niveau des tubes séminifères comme le montre les coupes histologiques des testicules, probablement causé par les ROS générés par le 1-MCP qui a déclenché un processus de stress oxydant au niveau des tissus reproducteurs ; ceci est démontré par la diminution des taux de GSH et de l'activité de GPx et de la CAT ainsi que l'augmentation des taux de SOD, GST, et MDA.

**Mots Clés :** 1-méthylcyclopropène, Pommes, Ethylène, Rats, Reprotoxicité, Hépatotoxicité, Stress oxydant.

## Abstract

1-Methylcyclopropene (1-MCP) is an emerging plant growth regulator (PGR) used in horticulture since the 2000s to minimize quantitative and qualitative post-harvest losses of climacteric fruits and vegetables such as apples, pears, bananas, and tomatoes. It acts by blocking the effect of ethylene, a plant hormone responsible for plant maturation and senescence. 1-MCP delays physiological plant processes, including color change, firmness, acidity, flowering, leaf loss, and other maturation aspects. This significantly delays spoilage, preserves nutritional quality, and extends storage life from weeks to months, contributing to its socio-economic significance. However, a concern arises as 1-MCP metabolizes into two products, 1-CMP and 3-CMP, classified by the COC as carcinogenic and mutagenic. These are less volatile than 1-MCP and bind even more with the tissues of treated plants. Moreover, when 1-MCP, a powdered substance, is diluted in water, it turns into a gas enveloping the tissues of fruits and vegetables. Residues of 1-MCP or its metabolites may be ingested during consumption, potentially being more toxic than the original product. Additionally, the Maximum Residue Limits (MRL) and Acceptable Daily Intake (ADI) allowed are very low compared to pesticides already proven to be hazardous, like CIPC.

Furthermore, the countries most utilizing 1-MCP are those exporting out-of-season fruits and vegetables, such as African and tropical countries. Products from these countries often contain high pesticide levels exceeding authorized levels. They lack residue control systems, correct handling techniques, and protection practices, as reported by the EU and FAO. Several studies have shown that PGRs, with a mode of action similar to 1-MCP, such as ethephon, have toxic effects on the liver, kidneys, lungs, gonads, and brain primarily through oxidative stress. Yet, no study has evaluated the potentially toxic effects of 1-MCP on mammalian tissues to date. Hence, this study aimed to evaluate the reproductive and hepatic toxic effects and the

antioxidant system of 1-MCP in Wistar rats. To mimic exposure and ingestion of 1-MCP residues during the consumption of treated fruits and vegetables, an experimental diet based on apples and low doses of 1-MCP was created and fed to rats for 90 days. At the end of the experiment, we measured body, liver, and testicular weights, biochemical liver biomarkers (AST and ALT serum activities), bilirubin levels, renal biochemical markers (creatinine, urea, uric acid), lipid profile (cholesterol and triglycerides), glucose, the male hormone testosterone, the antioxidant system (GSH content, GST, GPx, CAT, and SOD activities), and the lipid peroxidation end-product (MDA levels) in the liver and testicles. We also calculated OSI and conducted H&E stained sections to observe histopathological changes in the liver and gonads.

The results revealed that the 1-MCP contaminated diet induced oxidative stress in the liver and depleted the general enzymatic activity of the antioxidant system, particularly GST, GPx, CAT, and SOD. The OSI of the 1-MCP treated rats was significantly elevated. 1-MCP also elevated MDA levels, indicating lipid peroxidation, but without observable pathological changes in hepatocytes or modified AST and ALT serum levels. However, the disrupted lipid profile was caused by the intrinsic interference of 1-MCP with fatty acids and cholesterol and triglyceride synthesis. Moreover, 1-MCP acted as an endocrine disruptor by blocking testosterone synthesis and as a reproductive toxin by modifying the architectural organization and mass of spermatozoa in the seminiferous tubules, as shown in testicular histological sections. This was likely caused by ROS generated by 1-MCP, triggering oxidative stress in the reproductive tissues, demonstrated by decreased GSH levels and GPx and CAT activity, and increased SOD, GST, and MDA levels.

**Keywords:** 1-methylcyclopropene, Apples, Ethylene, Rats, Reprotoxicity, Hepatotoxicity, Oxidative stress.

## ملخص

- الميثيل سيكلوبروبين هو منظم نمو نباتي ناشئ يستخدم في الزراعة منذ عام 2000 للحد من الخسائر الكمية والنوعية بعد الحصاد للفواكه والخضروات الناضجة مثل التفاح والكمثرى والموز والطماطم. يعمل عن طريق حجب تأثير الإيثيلين، هرمون المسؤول عن نضج النبات وشيخوخته مثل العمليات الفيزيولوجية للنبات، بما في ذلك تغيير اللون والصلابة والحموضة والتزهير وفقدان الأوراق وجوانب أخرى من نضوج النباتات. وهذا يُؤخر بشكل كبير تعفنها، ويحفظ جودتها الغذائية، ويمد عمر تخزينها من أسابيع إلى أشهر، مما يسهم في أهميته الاجتماعية والاقتصادية

ومع ذلك، تثير مشكلة حيث أن يتحول الميثيل سيكلوبروبين يتحلل إلى منتجين مسرطنة ومتحولة. علاوة على ذلك، هو متواجد على شكل مسحوق، يتحول عند الاختلاط بالماء إلى غاز يغلف أنسجة الفواكه والخضروات. يُمكن استيعاب بقايا هذا المنتج أو مُنتجاته أثناء الاستهلاك، والتي قد تكون أكثر سمية من المنتج الأصلي. بالإضافة إلى ذلك، تعتبر الحدود القصوى للبقايا و الجرعة اليومية المقبولة منخفضة جدًا مقارنةً بالمبيدات الحشرية المثبتة سابقًا أنها خطيرة علاوة على ذلك الدول الأكثر استخدامًا لهذا المنتج هي تلك التي تصدر الفواكه والخضروات خارج موسمها، مثل الدول الأفريقية والاستوائية. منتجات هذه الدول غالبًا ما تحتوي على مستويات عالية من المبيدات الحشرية تتجاوز المستويات المسموح بها. نفتقر هذه الدول إلى أنظمة مراقبة البقايا وتقنيات التعامل الصحيح وممارسات الحماية، كما دُكر من قبل الاتحاد الأوروبي ومنظمة الأغذية والزراعة

أظهرت العديد من الدراسات أن المواد المنظمة لنمو النباتات ذات آلية عمل مشابهة مثل إيثفون، لها آثار سامة على الكبد والكليتين والرئتين والغدد التناسلية والدماغ أساسًا من خلال الإجهاد التأكسدي. ، ومع ذلك حتى الآن لم يتم إجراء أي دراسة لتقييم التأثير على أنسجة الثدييات السام المحتمل للميثيل سيكلوبروبين

كان هدف هذه الدراسة هو تقييم التأثير السام على الجهاز التناسلي والكبد ونظام مضادات الأكسدة لـ فءران ويستار. لمحاكاة أثناء استهلاك الفواكه والخضروات المعالجة، تم إنشاء نظام غذائي تجريبي يعتمد التعرض والابتلاع لبقايا من الميثيل سيكلوبروبين على التفاح تم تغذية الفئران بها لمدة 90 يوم

في نهاية التجربة، قمنا بقياس الأوزان الجسدية والكبدية والخصيتية، والمؤشرات الكيميائية للكبد ومستويات البيلبيروبين، والمؤشرات الكيميائية الكلوية (الكرياتينين واليوريا وحمض اليوريك)، وملف الدهون (الكوليسترول والدهون الثلاثية) وملف ضادات الأكسدة ومنتج نهاية الأكسدة الدهنية و الكربوهيدرات (الجلوكوز)، ومستوى الهرمون الجنسي الذكري (التستوستيرون)، و أجرينا أقسام مصبوغة بالهيماتوكسيلين والأوزين لمراقبة التغيرات النسيجية في والغدد التناسلية الكبد. م

النتائج كشفت أن النظام الغذائي الملوث بالميثيل سيكلوبروبين أحدث إجهاداً أكسدياً في الكبد وقلل من النشاط الإنزيمي العام لنظام مضادات الأكسدة، ورفع مستويات منتج نهاية أكسدة الدهون، دون وجود تغييرات مرضية ملحوظة في خلايا الكبد أو تعديلات في مستويات الإنزيمات الدموية. ومع ذلك، تسبب تشوه البروفيل الدهني من خلال التدخل الجوهري للميثيل سيكلوبروبين مع الأحماض الدهنية وتخليق الكوليسترول والدهون الثلاثية علاوة على ذلك، أدى الميثيل سيكلوبروبين إلى أن يعمل كمشوه هرموني

بحجب تخليق التستوستيرون وكمسمم للإنجاب من خلال تعديل التنظيم المعماري والكتلة للحيوانات المنوية في الأنابيب المنوية، كما يظهر في الأقسام النسيجية للخصيتين. ومن المرجح أن يكون ذلك ناجماً عن الجزيئات النشطة للأكسجين التي أحدثها الميثيل سيكلوبروبين، مما أدى إلى إثارة الإجهاد التأكسدي في الأنسجة التناسلية، ويتضح ذلك من خلال انخفاض مستويات الإنزيمات المضادة للأكسدة المضطربة.

**الكلمات المفتاحية:** 1- ميثيل سيكلوبروبين، التفاح، الإيثيلين، الفران، السمية الإنجابية، السمية الكبدية، الإجهاد التأكسد

## Liste des figures

Figure 1. Conditions d'élevage lors du protocole expérimentale.....	18
Figure 2. Pomme Golden de la wilaya de Batna, Algérie. ....	19
Figure 3. Structure chimique du 1-méthylcyclopropène en 3D. ....	20
Figure 4. 1-méthylcyclopropène en poudre. ....	21
Figure 5. Etapes de préparation du régime alimentaire.....	23
Figure 6. Dissection d'un rat traité à la fin de l'expérimentation.....	24
Figure 7. Schéma récapitulatif du protocole expérimental. ....	25
Figure 8. Automate mindray BS-240. ....	26
Figure 9. Système d'immuno-analyse par chimiluminescence ; MAGLUMI 800.....	38
Figure 10. Gamme d'étalonnage du Sérum Bovine Albumine (BSA). ....	40
Figure 11. Réaction de mesure de la GSH. (Sedlak & Lindsay, 1968).....	41
Figure 12. Effet du régime alimentaire expérimental sur l'évolution du poids corporel des rats.....	54
Figure 13. Effet du régime alimentaire expérimental sur les variations des activités sériques des transaminases.....	56
Figure 14. Effet du régime alimentaire expérimental sur les taux de bilirubine.....	57
Figure 15. Effet du régime alimentaire expérimental sur les taux de créatinine.....	57
Figure 16. Effet du régime alimentaire expérimental sur le taux d'urée et d'acide urique. ....	58
Figure 17. Effet du régime alimentaire expérimentale sur la glycémie. ....	58
Figure 18. Effet du régime alimentaire expérimental sur les taux de cholestérol et des triglycérides.....	59
Figure 19. Effet du régime alimentaire expérimental sur les taux de testostérone. ....	59
Figure 20. Effet du régime alimentaire expérimental de la glutathion réduits (GSH) au niveau hépatique. ....	60

Figure 21. Effet du régime alimentaire expérimental sur les taux du malo-dialdéhyde (MDA) au niveau hépatique.....	60
Figure 22. Effet du régime alimentaire expérimental sur l'activité de la glutathion-s-transférase (GST) au niveau hépatique.....	61
Figure 23. Effet du régime alimentaire expérimental sur l'activité de la glutathion peroxydase (GPx) au niveau hépatique.....	62
Figure 24. Effet du régime alimentaire expérimental sur l'activité catalase (CAT) au niveau hépatique.....	62
Figure 25. Effet du régime alimentaire expérimental sur l'activité du superoxyde dismutase (SOD) au niveau hépatique.....	63
Figure 26. Effet du régime alimentaire expérimental sur les taux de la glutathion réduit (GSH) au niveau testiculaire.....	63
Figure 27. Effet du régime alimentaire expérimental sur les taux du malo-dialdéhyde (MDA) au niveau testiculaire.....	64
Figure 28. Effet du régime alimentaire expérimentale sur l'activité de la glutathion-s-transférase (GST) au niveau testiculaire.....	64
Figure 29. Effet du régime alimentaire expérimental sur l'activité de la glutathion peroxydase (GPx) au niveau testiculaire.....	65
Figure 30. Effet du régime alimentaire sur l'activité de la catalase (CAT) au niveau testiculaire.....	66
Figure 31. Effet du régime alimentaire expérimentale sur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) au niveau testiculaire.....	66
Figure 32. Photomicrographies de sections colorées (H&E) de foies de rats.....	67
Figure 33. Photomicrographies de sections colorées (H&E) de testicules de rats.....	68

## Liste des tableaux

Tableau 1. Produits horticoles cibles du 1-mcp (adapté de Paul et Pandey, 2017).....	8
Tableau 2. Applications du 1-mcp sur certains fruits et ces réponses physiologiques (adapté de Paul et Pandey, 2017).....	9
Tableau 3. Propriétés physicochimiques du 1-méthylcyclopropène.....	20
Tableau 4. Répartition des lots.....	21
Tableau 5. Réactifs utilisés dans la mesure de l'ASAT.....	27
Tableau 6. Réactifs utilisés dans la méthode de mesure de l'activité ALAT. ....	28
Tableau 7. Réactifs utilisés dans la méthode de mesure de la bilirubine.....	29
Tableau 8. Réactifs utilisés dans la méthode de détermination de la concentration de l'urée. .....	30
Tableau 9. Réactifs utilisés dans la méthode de détermination de la créatinine sanguine..	31
Tableau 10. Réactifs utilisés dans la méthode de détermination de l'acide urique. ....	32
Tableau 11. Réactifs utilisés dans la méthode de détermination du taux de glucose.....	33
Tableau 12. Réactifs utilisés dans la méthode de détermination du taux de cholestérol total. .....	34
Tableau 13. Réactifs utilisés dans la méthode de détermination du taux de triglycérides..	36
Tableau 14. Réactifs utilisés dans la méthode de mesure du taux de testostérone. ....	37
Tableau 15. Etapes de préparation des étalons.....	39
Tableau 16. Solutions utilisés dans la méthode d'Ellman, 1959. ....	41
Tableau 17. Solutions utilisées dans la méthode de Habig, 1974. ....	42
Tableau 18. Solutions utilisées dans la méthode de Hafeman, 1974. ....	44
Tableau 19. Solutions utilisées dans la méthode de Cohen, 1970. ....	45
Tableau 20. Solutions utilisées dans la méthode Ohkawa, 1979. ....	47
Tableau 21. Les solutions utilisées dans la méthode de Splitz et Obreley, 1989.....	48

Tableau 22. Solutions utilisées dans la coloration Hématoxyline-Eosine. ....	51
--	----

## Liste des Abréviations

OMS : Organisation Mondiale de Santé

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture

RCPs : Régulateurs de Croissance des Plantes

UE : l'Union Européen

ADI : Acceptable Daily Intake (Apport Journalier Acceptable)

MRL : Maximum Residus Levels (Niveau Maximum des Résidus)

PGRs : Plant Growth Regulators

ABA : Acide Abscissique

GA : Acide Gibbérellines

ETP : Ethéphon

NAA : Acide Naphtalène-Acétique

2-4D : 2,4-Dichlorophénoxy-acétique

1-MCP : 1-méthylcyclopropène

EPA : Agence de Protection de l'Environnement

a.i. : Ingrédients Actif

1-CMP : 1-chlorométhylpropène

3-CMP : 3-chlorométhylpropène

COC : Comité de la Cancérogénicité des Produits Chimiques dans les Aliments et les Produits de Consommation et l'Environnement

NTP : National Toxicology Programm (Programme Nationale de Toxicologie)

EFSA : European Food Safety Authority (Autorité Européenne de la Sécurité Alimentaire)

CIPC : Isopropyl-3-chlorophényl carbamate

3-CA : 3-chloroaniline

IAA : Acide Indole-3-Acétique

ROS : Reactive Oxygen Species (Espèces Réactives à l'Oxygène)

TIBA : Acide 2,3,5-Triodobenzoïque

GST : Glutathion-s-transférase

GPx : Glutathion Peroxidase

GR : Glutathion Réductase

CAT : Catalase

SOD : Superoxyde Dismutase

G6PD : Glucose-6-phosphate Déshydrogénase

GSH : Glutathion

ADN : Acide Désoxyribonucléique

O<sup>-2</sup> : Anion superoxyde

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

ASAT : Aspartate Amino-Transférase

ALAT : Alanine Amino-transférase

MDA : Malon-dialdéhyde

H & E : Hématoxyline et Eosine

IPA : Institut Pasteur d'Alger

GC-MS : Gas Chromatography-Mass Spectrometry (Chromatographie en phase Gazeuse - Spectrométrie en Masse)

DL50 : Dose létale a 50 %

NOAEL : No Observed Adverse Effect Level (Niveau sans Effet Nocif observable)

EDTA : Acide éthylènediaminetétraacétique

NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide (réduit)

NAD<sup>+</sup> : Nicotinamide Adénine Dinucléotide (oxydé),

H<sup>+</sup> : ions d'hydrogène

Abs : Absorbance

POD : Peroxydase

4-AF : 4- aminophénazone (4-AF)

DCPS : 2-4 Diclorphénol sulphonate

RT : Réactif de Travail

LPL : Lipoprotéine lipase

GPO : Glycérophosphate Déshydrogénase

ATP : Adénosine Tri-phosphate

GK : Glycérol Kinase

G3P : Glycérol 3-phosphate

ADP : Adénosine di-phosphate

DAP : Dihydroxyacétone phosphate

ABEI : Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay

FITC : Fluorescein IsoThioCyanate

CLIA : Immuno Analyse par Chimio luminescence

BSA : Bovine Sérum Albumine

DTNB : Acide 5-dithiobis 2-nitrobenzoic

HCl : Acide hydro chlorhydrique

TCA : Acide Tri-chloro Acétique

CDNB : 1-chloro-2,4-dinitrobenzene

KCl : Chlorure de Potassium

NaN<sub>3</sub> : Sodium Azide

NaCl : Chlorure de Sodium

TBA : Acide Thiobarbiturique

NBT : Nitroble Tetrazilium

GB : Globules Blancs

GR : Globules Rouges

HGB : Hémoglobine

HCT : Hématocrite

VGM : Volume Globulaire Moyen

TMH : Teneur Moyenne en Hémoglobine

CCMH : Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine

PLT : Plaquettes

P-LCR : Taux de Plaquettes a Grandes Cellules

FSH : Hormone Folicullo-stimulante

LH : Hormone Lituanisante

CCC : Chlorocholine chloride

HPG : Axe hypothalamo-hypophysaire-gonadotropique

## Table de matières

<b>Résumé</b>	<b>I</b>
<b>Abstract</b>	<b>IV</b>
<b>ملخص</b>	<b>VI</b>
<b>Liste des figures</b>	<b>VIII</b>
<b>Liste des tableaux</b>	<b>X</b>
<b>Liste des Abréviations</b>	<b>XII</b>
<b>Table de matières</b>	<b>XV</b>
<b>Chapitre -I- Introduction</b>	<b>2</b>
<b>Chapitre -II- Matériels et méthodes</b>	<b>18</b>
<b>1. Matériels utilisés</b>	<b>18</b>
1.1. Matériel animal	18
1.2. Matériel végétal	19
1.3. Matériel chimique	20
<b>2. Méthodes expérimentales</b>	<b>21</b>
2.1. Régime alimentaire	21
2.2. Analyses sanguines	26
2.2.1. Mesure des paramètres hématologiques.	26
2.2.2. Mesure des paramètres biochimiques.	26
2.2.2.1. Paramètres biochimiques de la fonction hépatique.	26
2.2.2.2. Paramètres biochimiques de la fonction rénale.	30
2.2.2.3. Paramètre du métabolisme glucidique.	33
2.2.2.4. Paramètres du métabolisme lipidique.	34

2.2.3. Mesure des paramètres hormonaux. _____	37
2.3. Mesure du stress oxydant _____	38
2.3.1. Dosage des protéines. _____	39
2.3.2. Mesure de la glutathion réduit (GSH). _____	41
2.3.3. Mesure de la glutathion-s-transférase (GST). _____	42
2.3.4. Mesure de la glutathion peroxydase (GPx). _____	43
2.3.5. Mesure du catalase (CAT). _____	45
2.3.6. Mesure du mano-dialdéhyde (MDA). _____	46
2.3.7. Mesure du superoxyde dismutase (SOD). _____	48
2.4. Réalisation des coupes histologiques _____	49
2.4.1. Préparation des Coupes de tissus incorporés à la paraffine _____	49
2.4.2. Technique de coloration Hématoxyline – Eosine : _____	50
2.5. Analyse statistique _____	52
<b>Chapitre -III- Résultats expérimentaux _____</b>	<b>54</b>
<b>1. Effet du régime alimentaire expérimental sur l'évolution du poids corporel et du poids des organes _____</b>	<b>54</b>
<b>2. Effet du régime alimentaire expérimental sur les paramètres hématologiques _____</b>	<b>55</b>
<b>3. Effet du régime alimentaire expérimental sur les paramètres biochimiques _____</b>	<b>56</b>
3.1. Variation des paramètres de la fonction hépatique _____	56
3.1.1. Mesure de l'activité des transaminases _____	56
3.1.2. Mesure du taux de bilirubine. _____	57
3.2. Variation des paramètres de la fonction rénale _____	57
3.2.1. Mesure du taux de créatinine _____	57
3.2.2. Mesure du taux d'urée et d'acide urique _____	58
3.3. Variation des paramètres du métabolisme glucidique _____	58
3.4. Variation des paramètres du métabolisme lipidique _____	59
3.4.1. Mesure des taux de cholestérol et des triglycérides _____	59

<b>4. Effet du régime alimentaire expérimental sur le profil hormonal</b>	<b>59</b>
<b>5. Effet du régime alimentaire expérimental sur le stress oxydant</b>	<b>60</b>
5.1. Au niveau hépatique	60
5.1.1. Mesure de la glutathion réduit (GSH).	60
5.1.2. Mesure de la malo-dialdéhyde (MDA).	60
5.1.3. Mesure de la glutathion-s-transférase (GST).	61
5.1.4. Mesure de la glutathion réduit (GPx).	62
5.1.5. Mesure de la catalase (CAT).	62
5.1.6. Mesure du superoxyde dismutase (SOD).	63
5.2. Au niveau testiculaire	63
5.2.1. Mesure des paramètres du stress oxydant non enzymatique	63
5.2.1.1. Mesure du taux de la glutathion réduit (GSH)	63
5.2.1.2. Mesure du taux du malo-dialdéhyde (MDA)	64
5.2.2. Mesure des paramètres du stress oxydant enzymatique	64
5.2.2.1. Mesure de l'activité de la glutathion-s-transférase (GST)	64
5.2.2.2. Mesure de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx)	65
5.2.2.3. Mesure de l'activité de la catalase (CAT)	66
5.2.2.4. Mesure de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD)	66
<b>6. Effet du régime alimentaire expérimental sur l'histologie</b>	<b>67</b>
6.1. Au niveau hépatique	67
6.2. Au niveau testiculaire	68
<b>Chapitre -V- Discussion</b>	<b>71</b>
<b>Chapitre -IV- Conclusion</b>	<b>88</b>
<b>Chapitre -VI- Références bibliographiques</b>	<b>91</b>

*Chapitre – I –*

*INTRODUCTION*

## Chapitre -I- Introduction

Afin de subvenir à nos besoins quotidiens en nutriments et vitamines et dans le but de maintenir un état de santé équilibré ; L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande aux adultes d'inclure une variété de fruits et légumes dans leur alimentation quotidiennes (WHO, 2023). Cette démarche permet la fortification du système immunitaire mais agit également comme bouclier préventif contre divers troubles pathologiques tels que les maladies cardiovasculaires et le cancer (Slavin et Llyod, 2012 ; Donkor et al., 2016). Ces propriétés sont dues aux diverses molécules phytochimiques que contiennent les plantes telles que les polyphénols, les flavonoïdes ou encore les caroténoïdes, et l'acide ascorbique (Slavin et Llyod, 2012 ; Rouphael et al., 2018). Cependant, nous ignorons si ces fruits et légumes disponibles sur le marché d'aujourd'hui et qui sont sensé nous protéger des maladies offrent une réelle garantie de sûreté concernant notre santé.

La demande de produits horticoles de qualité a augmenté considérablement au cours des vingt dernières années, stimulée par l'intérêt croissant de la société pour les produits frais et hors saison (Bisbis et al., 2018 ; Rouphael et al., 2018). La prise de conscience générale sur les habitudes alimentaires saines, les bienfaits nutritionnels des fruits et légumes ainsi que le végétarisme ont également renforcé cette tendance. Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO), entre 2000 et 2020, le commerce intercontinental des fruits et légumes a doublé en terme de quantités de produits échangés et de valeurs commerciale (FAO, 2023). Afin de répondre cette demande croissante tout au long de l'année et de prolonger la durée de conservation des fruits et légumes, les procédures de maturation artificielle sont devenues essentielles (Bhadoria et al., 2018 ; Bisbis et al., 2018 ; Abdel-Rahman et al., 2023). Cela correspond également à une augmentation de l'utilisation de pesticides. En effet, les pesticides permettent d'améliorer et d'augmenter les rendements agricoles ; Ils protègent les plantes des agressions biologiques en climatiques et diminuent ainsi

les coûts (Chen et al. 2011 ; Donkor, 2016). Parmi les différents agents chimiques de maturation, les régulateurs de croissance des plantes (RCPs) tel que le carbure de calcium, ou l'éthéphon sont largement utilisé (Bhadoria et al., 2015 ; Abdel-Rahman, 2023) à tel point que la quantité des RCPs utilisé en agriculture aujourd'hui est entrain de dépasser grandement la quantité d'insecticides, un des types de pesticides les plus utiliser dans le monde (Ozok et Celik, 2012). En effet ; Plus de 1000 composés sont utilisés dans l'agriculture moderne (Donkor et al., 2016). Ceci est d'autant plus vrai lorsqu'il s'agit de répondre à l'offre et à la demande du marché des pays développés tout au long de l'année, En effet ; les fruits et légumes des régions tropicales destinés à l'exportation sont soumis à une utilisation accrue de pesticides. La contamination par les résidus de pesticides provoquée par cette manipulation ne se limite pas seulement aux cultures, mais également au sol, à l'eau et à l'environnement. Ces résidus finissent par pénétrer dans la chaîne alimentaire et être ingérés par les humains (Chen et al., 2011 ; Hjorth et al., 2011 ; Donkor et al., 2016). On estime que les niveaux de pesticides dans divers fruits et légumes pourraient dépasser les limites établies par l'Union Européenne (UE), l'OMS et l'FAO (Chen et al. 2011 ; Donkor, 2016). En effet ; l'exposition aux pesticides par la voie alimentaire est cinq fois plus élevée que d'autres voies d'exposition, tel que l'air et l'eau potable (Chen et al. 2011 ; Donkor et al., 2016). Une étude avait montré que dans 283 résidus de pesticides analyser dans les fruits et légumes, environ le tier des échantillon dépasser la valeur d'apport journalier acceptable (ADI) (Marques et Silva, 2021). Une autre étude avait investigué la quantité de résidus de pesticides dans les fruits et légumes d'Amérique du Sud ; 8,4 % des échantillons étaient supérieurs aux niveaux maximal de résidus (MRL) (Hjorth et al., 2011). Tel été le cas pour dichlorvos dont les concentrations dépassait l'ADI dans 18 types de légumes dans le Népal (Bhandari et al., 2019). En effet, des résidus de pesticides ont été trouvés dans de nombreux produits alimentaires, notamment les céréales (Hou et al., 2013), les fruits de mer (Ernst et al., 2018) et le thé (Chen et al., 2016). Mais principalement les fruits et

légumes, où des niveaux encore plus élevés de pesticides ont été trouvés rendant les fruits et légumes impropres à la consommation, comme cela a été le cas dans des pays tels que le Burkina Faso (Lehmann et al., 2017), le Koweït (Jallow et al., 2017), la Tanzanie (Kariathi et al., 2016) et le Sénégal (Diop et al., 2016). Cela va de même pour les RCPs (Wang et Hao, 2023). Ces dernières années l'utilisation des RCPs dans la culture de plantes médicinales traditionnelles chinoises a sonné le signal d'alerte quant à la sécurité et la qualité nutritionnelle des produits (Liu et al., 2016). Dans certaines herbes phytothérapeutiques traitées avec des RCPs, la teneur en métabolites nécessaire a été considérablement détériorée (Sutcharitchan et al., 2020). Ainsi, en consommant des aliments contaminés par les résidus, l'humain peut être exposé à ces pesticides (Bhandari et al., 2019). Par conséquent, les effets sur la santé humaine peuvent être aigus (comme les maux de tête et les nausées) ou chroniques, causant des troubles pathologiques plus graves (comme le cancer ou la stérilité,) (Donkor et al., 2016). Ils affectent ainsi les systèmes immunitaires et endocriniens et des mammifères de manière interactive et complexe (Barański et al., 2021).

Les régulateurs de croissance végétale (RCPs), également connus sous le nom de régulateurs d'hormones végétales ou PGR (pour Plant Growth Regulators), sont des composés organiques utilisés en agriculture avec des pesticides. Ils influencent une multitude de processus physiologiques des plantes (Hajam et al., 2018 ; Tousson et al., 2019) dans le but de contrôler et de réguler la production des cultures (Hajam et al., 2018 ; Abdel-Rahman et al., 2023), et sont applicables à différentes étapes du cycle de vie des plantes. Les RCPs peuvent être d'origine naturelle, dans ce cas ; appelées « phytohormones », produites naturellement par les plantes elles-mêmes. Elles exercent leur effet sur la croissance et le développement. Ces hormones végétales jouent un rôle déterminant dans le cycle de vie des plantes allant du développement des fleurs, des tiges, des feuilles, la chute des feuilles, et la maturation des graines et des fruits (Hajam et al., 2018). Ces derniers se répartissent en six grandes catégories

: auxines, gibbérellines, cytokinines, générateurs d'éthylène, acide abscissique et polyamines (Hassan et al., 2013). Et sont classées en deux classes selon l'effet qu'ils exercent sur les plantes. Les promoteurs de la croissance des plantes sont des substances qui favorisent la croissance et stimulent le développement des plantes. Et la deuxième classe c'est ; les retardateurs de croissance des plantes sont des composés qui inhibent la croissance et retardent le développement des plantes (Hajam et al., 2018). A titre d'exemple, des composés tels que l'acide abscissique (ABA) est responsable du développement des graines, régulation de la dormance et de la germination (Xiong et Zhu, 2003 ; Isik et Celik, 2015). Alors que les gibbérellines (GA), l'éthylène et les auxines inhibent la floraison de certaines plantes (Hajam et al., 2018). En outre, les RCPs sont impliqués de façon positive ou négative dans l'allongement des tiges, la dormance des graines, développement des bourgeons, maturation des fruits, la floraison, la germination des graines, ainsi que dans la régulation de l'expression des caractères sexuels (Xiong et Zhu, 2003 ; Isik et Celik, 2015). Par ailleurs, les RCPs peuvent être d'origine synthétique, Ils agissent autant qu'agents régulateurs des niveaux d'hormones (libérant des hormones ou inhibant leur synthèse), ainsi que des substances modifiant la sensibilité à la réception des hormones Par exemple ; le GA<sub>3</sub> est un agent inhibiteur des gibbérellines (GA) qui inhibe la floraison, améliore la fermeté des fruits, leurs contenants en anthocyanines et prévient les infections fongiques alors que l'éthéphon (ETP) inhibe l'effet de l'éthylène et donc bloque le ramollissement et la maturation des fruits (Hajam et al., 2018). Leur effet dépend de plusieurs facteurs ; différents RCP a différentes doses, appliqué à différents stage de développement et sur différents type des plantes permet d'avoir des réponses moduler. Par exemple l'acide naphthalène-acétique (NAA) ; une auxine de synthèse qui à 50 ppm maximum agit comme un retardateur de floraison chez les pommes, les poires, et les pêches alors qu'il induise une floraison précoce et accélère la nouaison chez l'ananas ce qui facilite la récolte de ce dernier. Le 2,4-dichlorophénoxyacétique (2-4D) par ailleurs induise la floraison des ananas

a seulement 10 ppm (Hajam et al, 2018). Un autre Exemple est le GA<sub>3</sub> qui est un promoteur qui augmente la taille des fruits, améliore leur fermeté et retarde la maturation chez les cerises et les pommes (Kappel et MacDonald, 2007). Alors que l'éthéphon, un inhibiteur d'éthylène augmente la concentration en anthocyanes et réduit la concentration en chlorophylle chez les pommes (Whale et al., 2008).

L'éthylène est l'un des régulateurs de croissance des plantes naturel qui affectent les processus de croissance et de développement, y compris le mûrissement et la sénescence (Sisler et Blankenship, 1996). C'est un hydrocarbure simple qui peut diffuser dans et hors des tissus végétaux à partir de sources endogènes et exogènes. L'éthylène peut avoir un impact profond sur la qualité des produits récoltés, avec des effets bénéfiques ou délétères en fonction du produit, de son stade de mûrissement et de son utilisation souhaitée (Fan et al, 1999 ; Watkins, 2006). L'éthylène favorise le développement de la couleur des fruits comme les pommes et les poires, le déverdissement des agrumes comme les oranges, stimule la déhiscence des noix et la maturation des fruits climatériques comme les pommes, et favorise la floraison des broméliacées comme l'ananas (Saltveit, 1999 ; Fan, 1999). Les réactions médiées par l'éthylène responsable de la maturation des végétaux comprennent ; la synthèse accrue d'éthylène et augmentation des taux de respiration, changement de pigmentation par accumulation de caroténoïdes, ramollissement du fruit par la dégradation de la paroi cellulaire, perte de chlorophylle, production de composés volatils de saveur et d'arôme, et augmentation des sucres et des acides (Paul et Pandey, 2017).

Au cours des années 1990, le professeur E.C. Sisler avait mis en évidence la capacité de certains cyclopropènes à neutraliser l'impacts de l'éthylène (Sisler et Blankenship, 1996). Dont le plus efficace été le 1-méthylcyclopropène (1-MCP). Ce dernier est un cyclopropène de formule chimique C<sub>4</sub>H<sub>6</sub> avec une masse moléculaire de 54,09 daltons. Il est volatil à température et à pression standard (Sisler et Blankenshio, 1996 ; Sisler, 2006). Le 1-MCP a la particularité de

se lier aux récepteurs d'éthylène et d'agir comme antagoniste aux actions de ce dernier ce qui lui a permis d'être identifié comme un inhibiteur d'éthylène et de ce fait, le 1-MCP a été classé par l'Agence de Protection de l'Environnement des États-Unis (EPA) comme un régulateur de croissance des plantes (RCP) (EPA, 2008). Son utilisation a initialement été autorisée sur les fleurs en 1999 puis en 2003 sur les fruits (Tableau 1) dont les premiers étaient les pommes (Paul et Pandey, 2017).

Ce qui a marqué cette découverte est le développement d'une technologie d'application du 1-MCP. À l'état liquide, les cyclopropènes sont des composés instables (Sisler et Blankenship, 1996). Par ailleurs ; la formulation du 1-MCP sous forme de poudre stable, dans laquelle il est complexé avec de la  $\gamma$ -cyclodextrine permet au 1-MCP d'être libéré sous forme de gaz lorsque cette dernière est dissoute dans l'eau. (Watkins, 2006). Ce n'est qu'après cela que des produits commerciaux contenant du 1-MCP en tant qu'ingrédient actif (a.i.) ont été produits et commercialisés. Le 1-MCP a été breveté en 1996, suivi d'un rapide enregistrement et commercialisation en raison de son mode d'action non toxique, de son efficacité à faibles concentrations et de sa facilité d'application (Zhang et al., 2020), les produits commerciaux d'EthylBloc visait principalement les cultures ornementales et SmartFresh destiné aux produits comestibles, notamment les fruits et légumes (Watkins, 2006 ; Paul et Pandey, 2017). Il a été enregistré pour son utilisation commerciale dans de nombreux pays dans l'Union Européenne, notamment la France, la Belgique, l'Allemagne, la Suisse, le Royaume Unis, mais aussi ; les États-Unis, le Mexique, l'Australie, le Canada, l'Argentine, le Brésil, la Chine, la Corée, l'Afrique du Sud, et la Turquie (Paul et Pandey, 2013).

Tableau 1. Produits horticoles cibles du 1-mcp (adapté de Paul et Pandey, 2017).

<b>Produits horticoles</b>	
<b>Fruits climactériques</b>	Pomme, poire, pêche, prune, abricot, avocat, kiwi, mangue, papaye, banane, tomate
<b>Fruits non climactériques</b>	Orange, citron, mandarine, fraise, raisins, ananas, pastèque, melon, poivron
<b>Légumes</b>	Carottes, pomme de terre, concombre, brocoli, chou, laitue, céleri, épinard

Le 1-MCP est appliqué après la récolte sur les fruits et légumes et bloque la perception et la production de l'éthylène et ainsi il inhibe les réponses médiées par l'éthylène, principalement les réactions liées au mûrissement des fruits et la sénescence des fleurs, des feuilles et de la plante (Fan, 1999 ; Paul et Pandey, 2013 ; Paul et Pandey, 2017). En conséquent, il préserve la qualité des aliments traités, prolonge leur durée de conservation et de stockage et diminue considérablement les pertes quantitatives et qualitatives post récoltes de nombreux fruits, légumes, fleurs, et plantes (Watkins, 2006), d'où l'énorme utilité économique des applications du 1-MCP dans la gestion post-récolte des produits périssables. Il faut également mentionner que l'impact du 1-MCP sur les processus physiologiques des plantes varie considérablement selon les types des plantes traitées, leur stades de mûrissement au moment du traitement, la durée et la concentration du traitement (Tableau 2) ainsi que les durées et conditions de stockage (Paul et Pandey, 2017 ; Zhang et al., 2020).

Tableau 2. Applications du 1-mcp sur certains fruits et ces réponses physiologiques (adapté de Paul et Pandey, 2017).

<b>Produit</b>	<b>Concentration du 1-MCP</b>	<b>Temps de traitement</b>	<b>Réponse bloqué / retardé</b>
<b>Pomme</b>	0.6–2.0 ppm	7 h –20 h	<ul style="list-style-type: none"> <li>- La production d'éthylène</li> <li>- La respiration</li> <li>- Le changement de couleur</li> <li>- Le brunissement interne</li> <li>- Pourriture et ramollissement</li> </ul>
<b>Banane</b>	0.1 ppm	6 h – 24 h	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Production d'éthylène</li> <li>- Respiration et maturation</li> <li>- Perte de chlorophylle</li> <li>- Changement de couleur</li> <li>- Production de composés volatils et perte d'amidon</li> <li>- Ramollissement</li> </ul>
<b>Poire</b>	2 - 4 ppm	16 h	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Production d'éthylène</li> <li>- Respiration</li> <li>- Ramollissement</li> </ul>
<b>Tomate</b>	20 ppm	2 h –24 h	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Production d'éthylène</li> <li>- Respiration</li> <li>- Accumulation de lycopène</li> <li>- Perte de chlorophylle</li> <li>- Ramollissement</li> </ul>
<b>Orange</b>	100 ppb	6 h - 12 h	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Déverdissement</li> <li>- Pourriture</li> </ul>
<b>Ananas</b>	0.1 ppm	18 h	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Production d'éthylène</li> <li>- Brunissement interne</li> </ul>
<b>Fraise</b>	2 ppm	2 h –18 h	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Production d'éthylène</li> <li>- Ramollissement</li> <li>- Changement de couleur</li> <li>- Pourriture</li> </ul>

Malgré son grand intérêt économique dans le monde de l'agriculture ; plusieurs facteurs remettent en question la nocivité du 1-MCP. En premier lieu, il convient de souligner que certains cyclopropènes ont été identifiés comme des inhibiteurs de la désaturation des acides gras et la gluconéogenèse chez les animaux, ainsi que pour avoir des effets carcinogènes et neurochimiques (Pawlowski et al., 1985). En effet ; à l'état liquide, les cyclopropènes sont des composés instables même à -78 °C ainsi, le 1-MCP est stable à l'état gazeux et à température ambiante (Sisler et Blankenship, 1996). Cependant, le propre inventeur du 1-MCP a déclaré qu'il serait préférable de trouver des composés plus solubles dans l'eau et moins volatils qui agissent pareillement mais qui seraient plus adaptés à être utilisés sur les denrées alimentaires comestibles.

D'autres part ; Le statut de la cancérogénicité du 1-MCP n'est pas très clair dans la littérature. Le 1-MCP se dégrade en deux métabolites qui sont ; le 1-chloro-2-méthylpropène (1-CMP), connu sous le nom de chlorure de vinyle diéthyl, et le 3-chloro-2-méthylpropène (3-CMP) (CIPAC, 2009). Le Comité sur la Cancérogénicité des Produits Chimiques dans les Aliments et les Produits de Consommation et l'Environnement (COC) a déjà classé ces deux contaminants comme génotoxiques et cancérigènes (COC, 2003). De plus, le 1-CMP et le 3-CMP ont fait l'objet du Programme National de Toxicologie (NTP) ; l'expérience menée sur le 1-CMP a montré que l'ingestion chronique pendant 2 ans par des rongeurs a été responsable du développement de tumeurs dans la cavité nasale, l'œsophage, l'estomac et causé une nécrose au niveau du foie. Le 1-CMP a également été considéré comme immunotoxique en intensifiant les infections bactériennes et en diminuant l'activité macrophagique, et mutagène (NTP, 1986a). D'autres études ont également montré que le 1-CMP induit des tumeurs gastriques chez les rongeurs, qu'il soit ingéré ou inhalé (Cannon et al., 2000 ; Katigri et al., 2000). De manière similaire, Le 3-CMP est également considéré comme mutagène et cancérigène en fonction de l'étude per os de 2 ans qui a montré le développement de tumeurs gastriques, de tumeurs rénales

et de phénomènes de métastase chez les rongeurs, Il déclenche est également responsables des inflammations au niveau hépatique et rénale (NTP, 1986b). D'autre part ; l'Autorité Européenne de la Sécurité Alimentaire (EFSA) as classé le 1-MCP comme un produit non toxique, ne laisse pas de résidus (EFSA, 2018). Cependant les deux produits de dégradation du 1-MCP à savoir le 1-CMP et le 3-CMP sont des dérivés chlorés moins volatils que le 1-MCP, et des résidus dans les aliments après traitement au 1-MCP sont possibles (Renwick et al., 2010). En réalité ; la littérature récente sur divers agrochimiques, notamment les RCPs a révélé que ces composés eux-mêmes ou leurs métabolites sont toxiques pour les humains, les animaux et l'environnement (Paul et Pandey, 2017) et que souvent les métabolites peuvent être plus dangereux que le composé d'origine lui-même (Park et al., 2009 ; Daniels-Lake et al., 2011 ; Smith et Bucher, 2012). En examinant par exemple un produit agissant de manière semblable au 1-MCP, qui est l'herbicide chlorprophame, également désigné par isopropyl-3-chlorophénylcarbamate (CIPC), très souvent appliqué sous forme de traitement par pulvérisation post-récolte sur les pommes de terre stockées, on constate que les aspects relatifs aux caractéristiques des métabolites de ce dernier a savoir ; le 3-chloroaniline (3-CA), sa formation et sa toxicité peut présenter des similitudes avec les métabolites du 1-MCP à savoir ; (le 1-CMP et le 3-CMP) (Park et al, 2009 ; Smith et Bucher, 2012 ; Paul et Pandey, 2017). De plus, comme le 1-MCP se lie au récepteur de l'éthylène de manière similaire observé a la liaison du 3-CA. Cette forte liaison qui existe entre contaminant et récepteur végétale rend l'établissement et l'évaluation d'une toxicité alimentaire définis du produit très difficile. En plus de la liaison spécifique aux récepteurs de l'éthylène, la sorption non spécifique du 1-MCP a également été signalée, et elle s'avère être différentes d'un type de plantes à un autres ; Elle est plus élevée chez la banane plantain et l'avocat par rapport à la tomate par exemple (Paul et Pandey, 2017). Et donc les contaminants peuvent être élevé dans certains aliments et pas d'autres, chose qui peut être exagéré par les applications de concentration d'1-MCP et durée

de traitement sans prendre en considération l'aspect de la persistance et la dissipation des pesticides dans les plantes qui dépendent largement des caractéristiques de chaque type de plante (Bhandari et al., 2019).

Un autre aspect du 1-MCP qui soulève des inquiétudes est les doses de l'ADI pour le 1-MCP qui est limitée à 0,02 mg/kg de poids corporel par jour (EFSA, 2018). Comparativement, deux herbicides couramment utilisés, le glyphosate et le CIPC qui ont des ADI de 0,30 et 0,05 mg/kg de poids corporel par jour respectivement (Paul et Pandey, 2017). En se basant sur ces informations ; le 1-MCP serait 15 fois et 2 fois plus toxique que le glyphosate et le CIPC, respectivement. Ainsi la très faible valeur de l'ADI pour le 1-MCP est en soi un indicateur de son statut de toxicité.

D'autre part, de nombreuses études sur différents types de régulateurs de croissance des plantes ont démontré leurs effets toxiques sur le système immunitaire (Isik et Celik., 2015, Abou-Zeid et al., 2018 ; Abdel-Rahman et al., 2023), le génome (Tousson et al., 2019, Kocaman et Güven, 2016), tératogènes (Troudi et al., 2010, El-Sayyad et al., 2012), le cerveau (Isik et Celik, 2015), le système reproducteur (Sørensen et Danielsen, 2006 ; Yeşilkaya et al., 2009), et même sur le système hématopoïétique (Tudor et al., 2017 ; Abou-Zeid et al., 2018 ; Andrew et al., 2018). En effet ; une étude a révélé que l'acide indole-3-acétique (IAA) a entraîné une augmentation des activités des enzymes antioxydantes dans les globules blancs des rats (de Melo et al., 2004). Par ailleurs ; Il a été prouvé que l'immunotoxicité du ETP est attribuée à l'induction du stress oxydatif au niveau des organes lymphoïdes tels que la rate et le thymus (Abou-Zeid et al., 2018). De plus, un stress oxydatif élevé a été associé à des contaminations par des RCPs, par exemple ; le GA<sub>3</sub> et ETP augmente les niveaux de peroxydation lipidique, suite au déclenchement d'un stress oxydatif (Andrew et al., 2018). L'éthéphon, même à faible dose, peut augmenter la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et augmenter la peroxydation lipidique dans les fibroblastes embryonnaires (Hodjat et al., 2017). Et induit des

dommage tissulaire rénaux en perturbant l'homéostasie oxydative (Mokhtari et al., 2020) De plus ; l'intoxication à l'éthéphon a été liée à une activité métabolique réduite et à une atrophie hépatocytaire entraînant une dégénérescence du foie (Abou-Zeid et al., 2018 ; Bhadoria et al., 2018). De plus, les chercheurs ont constaté qu'une exposition combinée à GA<sub>3</sub> et à ETP chez les rats entraînait des effets pro-oxydants et inflammatoires dans le foie des rats (Abdel-Rahman et al., 2023). Cela a provoqué des processus apoptotiques et nécrotiques, entraînant des effets néfastes sur les cellules hépatiques (Andrew et al., 2018). En revanche, l'acide 2,3,5-triiodobenzoïque (TIBA), le NAA et le 2,4-D ont la capacité d'altérer l'équilibre pro-oxydants/antioxydants dans les tissus de rats, y compris le foie, les reins, le cœur, les poumons et la rate (Celik et al., 2006 ; Celik et Tuluce, 2007; Isik et Celik., 2015). Ainsi, le déclenchement du stress oxydatif via la génération de radicaux libres, et l'induction de la peroxydation lipidique est l'un des mécanismes moléculaires par lesquels les RCPs peuvent déclencher une cyto-toxicité et les dommages tissulaires au niveau des organes des mammifères, et ainsi le stress oxydant est considéré comme un facteur clé dans l'étude des effets toxiques associés à l'exposition aux RCPs (Celik et al., 2006; Celik et Tuluce, 2007).

Le système antioxydant est composé des enzymes antioxydantes tel que la glutathion-s-transférase (GST), la glutathion peroxydase (GPx), la glutathion réductase (GR), la catalase (CAT), le superoxyde dismutase (SOD), et la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) ainsi que des agents de capture des radicaux libres tel que la glutathion réduite (GSH) dont le rôle principal est d'éliminer ou d'au moins maintenir un taux faible et constant des ROS a fin et maintenir l'équilibre homéostatique et de protéger les fonctions des organismes du stress oxydatif. Ce dernier est causé par les xénobiotiques qui ont la capacité de perturbé la fonction des enzymes antioxydants. Et cause ainsi des cassures au niveau de l'ADN et une peroxydation lipidique lorsque les défenses antioxydantes sont altérées ou dépassées. Le stress oxydatif est défini donc comme une perte de l'équilibre normal entre la production de l'espèce réactive de

l'oxygène (ROS) et le système antioxydant. (Celik et al., 2006). L'un des ROS les plus dangereux est l'anion superoxyde ( $O^{-2}$ ) qui est converti en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), responsable de la production d'agent oxydant fort ; l'hypochlorite (Celik et al., 2006 ; Ozok et Celik, 2012).

Cependant, la contribution spécifique des différentes classes de RCPs, telles que le 1-MCP, au stress oxydatif reste mal caractérisée. En particulier, étant donné que les RCPs sont fortement absorbés par voie cutanée, orale ou respiratoire, ils ont le potentiel d'infliger des dommages aux organes vitaux tels que le foie, les reins, les gonades et le cerveau. Suite à une mauvaise manipulation et à l'utilisation croissantes de pesticides y compris les RCPs par les agriculteurs, ainsi qu'à une gestion et une réglementation inadéquate dans les pays en développement, les cas d'empoisonnement aux pesticides dépassent de loin ceux des pays développés (Chen et al., 2011 ; Donkor et al., 2016). En effet, le rapport annuel de surveillance de l'UE montre que les résidus de pesticides dans ces échantillons provenant des produits d'exportation des pays tropicaux et africains contiennent plus souvent des résidus dépassant MRL par rapport aux résidus de pesticides dans les échantillons des pays de l'UE (Hjorth et al., 2011). En effet, l'utilisation de pesticides en agriculture fait l'objet d'une surveillance constante en termes d'autorisation et d'enregistrement, ainsi que sur le respect des MRL et les niveaux de contaminations. Cependant, ces préoccupations ne sont pas bien prises en compte dans la plupart des pays en développement (Donkor et al., 2016). Les programmes de contrôle des résidus de pesticides dans les pays africains et tropicaux producteurs et exportateurs sont souvent limités en raison du manque de ressources et de législation rigoureuse. De plus, les programmes de formation pour le personnel technique et l'équipement de surveillance des résidus de pesticides sont souvent défaillants ou complètement absents (Hjorth et al., 2011). Un autre défi consiste à aborder des questions d'évaluation des risques plus complexes, notamment

l'exposition à plusieurs composés telle que l'exposition cumulative aux pesticides et l'exposition par diverses voies, appelée exposition agrégée (van Klaveren et Boon, 2009).

Ces résultats ont suscité nos inquiétudes quant au risque potentiel d'empoisonnement toxique lié à l'exposition au 1-MCP, que ce soit par contact professionnel, manque de conscience, pratiques non sécurisées, mesures de protection inadéquates ou consommation d'aliments traités avec le 1-MCP. En fait, aucune étude n'a été menée sur l'effet de la contamination par le 1-MCP sur le fonctionnement des tissus mammifères et la santé. Les seules données toxicologiques disponibles ont été établies dans le but d'obtenir une autorisation légale de mise sur le marché. De plus, l'état actuel des connaissances concernant l'effet de l'exposition aux résidus de 1-MCP par le biais de l'alimentation sur la santé des consommateurs, son mécanisme de toxicité et son interaction avec les molécules biologiques est encore inconnu. Ainsi, son effet toxique potentiel, similaire à celui d'autres RCPs, a suscité notre intérêt en raison de son application émergente à une large gamme de cultures, à des concentrations variables, et de la consommation quotidienne répétée de fruits et légumes traités. Dans ce contexte, nous avons conçu l'étude suivante pour investiguer l'effet de l'exposition aux résidus de 1-MCP par la consommation de fruits et légumes traités sur la santé humaine. Pour ce faire, nous avons tenté de reproduire la consommation quotidienne humaine de pommes préservées par le 1-MCP, le premier fruit sur laquelle le 1-MCP a été utilisé, à cause de sa forte sensibilité à l'éthylène et sa forte réponse au 1-MCP peu importe la sous espèce de la pomme (Zhang et al., 2020) ; En effet le 1-MCP avait aboli l'adoucissement et la perte d'acidité dans cinq cultivars de pommes, (Fan, 1999). De plus, la plupart des dépassements de résidus de pesticides à savoir ; 34 % ont été trouvés dans les pommes (Hjorth et al., 2011). Ainsi notre but été d'évaluer l'effet sub-chronique d'un régime contaminé par le 1-MCP chez les rats Wistar albinos en mesurant les paramètres hématologiques, biochimique à savoir la mesure de l'Aspartate Amino Transférase (ASAT), l'Alate Amino Transférase (ALAT), créatinine, bilirubine, acide urique et urée, ainsi

que métabolique a savoir la mesure du glucose, cholestérol, et triglycérides. On a également évalué le fonctionnement du foie, et les testicules en mesurant le système antioxydant en mesurant les biomarqueurs du stress oxydatif (concentration GSH; l'activité enzymatique de la GST, GPx, CAT, et SOD), et la concentration du produit final de la peroxydation lipidique (malon-dialdéhyde MDA); nous avons également observé les changements histologiques des coupes colorées à l'hématoxyline et à l'éosine (H&E) du foie et des testicules et ont mesuré les taux sérique de la testostérone.

Notre choix c'est porté sur le foie d'une part sur le foie ; le premier organe de détoxification et métabolique entrant en contact avec les xénobiotiques, les lésions hépatiques suite à la consommation de ces agents chimiques tel que les pesticides peuvent être fatales et provoques des conditions pathologiques sous-jacentes (Ahmed et al., 2023). D'autre part, plusieurs études sur les RCPs ont montré des modifications morphologiques et un dysfonctionnement au niveau du foie (Celik et Tuluce, 2007 ; Ozok et Celik, 2012 ; Bhadoria et al., 2018). Nous nous sommes également concentrés sur les testicules car les RCPs peuvent agir en tant qu'agents reprotoxiques en inhibant la spermatogénèse (Jahangirfard et al., 2021). Plusieurs récentes études portant sur les RCPs avec différentes doses et différents périodes de traitement ont montré qu'ils avaient des effets délétères sur la fertilité et le système reproducteurs mal même à des très faibles concentrations à cause de la sensibilité élevé des testicules et cellules reproductrices au repro-toxines et aux perturbateurs endocriniens. (Jahangirfard et al., 2021 ; Abd Eldaim et al., 2019 ; Khalaf et al., 2019, Hou et al., 2020 ; Soliman et al., 2021).

*Chapitre – II –*

*MATERIELS & METHODES*

## Chapitre -II- Matériels et méthodes

### 1. Matériels utilisés

#### 1.1. Matériel animal

L'expérimentation a été effectuée sur des rats adultes mâles âgés de 3 mois, de souche Wistar, et de type holoxénique provenant de l'Institut Pasteur d'Alger (IPA). Au laboratoire ; Les rats ont été placés individuellement dans des cages en plexiglass nettoyées régulièrement et rangées dans une enceinte autonome Techni-Plast (Figure 1), où les paramètres suivants ont été contrôlés : une température de 22°C ( $\pm$  3°C), taux d'humidité compris entre 50% et 70 %, une photopériode artificielle 12h luminosité / 12h obscurité et un accès ad libitum à l'eau potable et à la nourriture standard pendant toute la durée de l'expérimentation. Une période de 4 semaines a été jugée suffisante pour l'adaptation des rats aux conditions expérimentales.



Figure 1. Conditions d'élevage lors du protocole expérimentale.

## *1.2. Matériel végétal*

Le matériel végétal utilisé été des pommes du type Golden récoltées à partir d'un pommier domestique (Figure 2), procurés par un distributeur de produits agriculteurs locaux de la wilaya de Batna de façon régulière toute au long de l'expérimentation. Le choix du fruit été basé sur plusieurs facteurs ; les pommes sont des fruits climactériques avec une forte sensibilité à l'éthylène rependant au maximum au traitement de l'1 méthylcyclopropène, C'est le premier fruit sur lequel l'Agence de Protection Environnementale des U.S.A. (EPA) a autorisée l'application du 1-MCP et avec la plus forte dose qui est égale à 1 ppm l'équivalent de 1 $\mu$ L/L (EPA, 2008).



Figure 2. Pomme Golden de la wilaya de Batna, Algérie.

### 1.3. Matériel chimique

PlantFresh™ 1-MCP est le nom commerciale du 1-méthylcyclopropène (Figure 3), qui a été procuré par Chesen Biochem Co.,Ltd (Chine) (Figure 4) ; une entreprise internationale spécialisé dans la fabrication et la commercialisation des produits agrochimiques.

Tableau 3. Propriétés physicochimiques du 1-méthylcyclopropène.

<b>Propriété physicochimique</b>	
Nom chimique	1-Méthylcyclopropène
Numéro CAS	3100-04-7
Formule brute	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub>
Fonction	Régulateur d'hormone végétale
Poids moléculaire	54,090 g/mol
Ingrédient actif	3,3 i.a. (Test GC-MS)
Etat physique	Poudre blanche

Le but dans le choix des doses et de mimer l'action des résidus du 1-méthylcyclopropène ingérés lors de la consommation des fruits traités d'où l'utilisation de très faibles concentrations du produit. La première dose est la dose létale à 50 % par voie orale divisé par 1000 (DL<sub>50/1000</sub>) égale à 5 mg/kg de poids corporel par jour (AFFSA, 2009). La deuxième dose est la dose sans effets indésirables systémiques observés (NOAEL) égale à 6,5 mg/kg de poids corporel et par jour (EFSA, 2018).

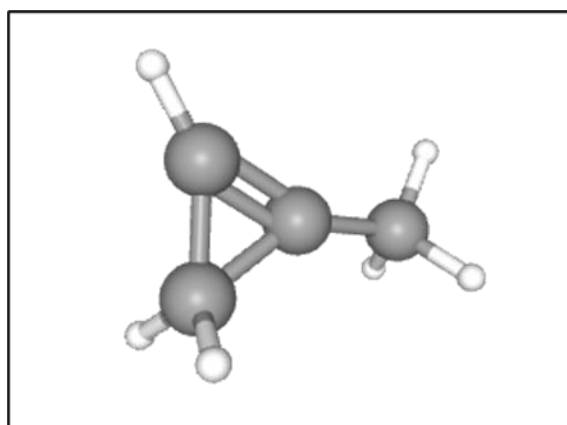


Figure 3. Structure chimique du 1-méthylcyclopropène en 3D.



Figure 4. 1-méthylcyclopropène en poudre.

## 2. Méthodes expérimentales

### 2.1. Régime alimentaire

Les rats ont été répartis en trois groupes homogènes à raison de 5 rats par groupe avec un poids moyen égale à  $226 \text{ g} \pm 26 \text{ g}$  au début de l'expérimentation. Tous les groupes recevaient soit ;

- Un régime alimentaire non contaminé qui correspond au lot témoin (I).
- Un régime alimentaire contaminé avec la dose létale a 50% divisée par 1000 (DL50/1000) qui correspond au lot II.
- Un régime alimentaire contaminé avec la dose sans effets indésirables observés "Non Observed Adverse Effect Level" (NOAEL) qui correspond au lot III.

Tableau 4. Répartition des lots.

<b>Lot</b>	<b>Traitement</b>	<b>Dose</b>	<b>Poids moyen</b>
<b>I</b>	Témoin	/	$235 \pm 35$
<b>II</b>	DL50/1000	5 mg/kg	$237 \pm 20$
<b>III</b>	NOAEL	6,5 mg/kg	$236 \pm 24$

La consommation alimentaire moyenne des rats a été mesurée quotidiennement avant le début du protocole expérimental. 50 % du taux de consommation alimentaire journalier

moyenne des rats qui correspond à 12 g a été remplacé par un régime alimentaire expérimental témoin ou contaminé. Les 50 % restante été maintenus au régime alimentaire standard pour subvenir aux besoins nutritionnels quotidiennes des rats et éviter un déficit alimentaire (Chiali et al., 2013).

Le régime alimentaire expérimental été composé de 25 % de la consommation alimentaire des rats soit 6 g de purée de pommes mélangé avec 25 % soit 6 g d'aliment standard en poudre. La préparation obtenue et par la suite rajouté a un 1 ml d'huile de tournesol pour le groupe témoin et 1 ml des doses du 1-MCP dissoute dans l'huile de tournesol pour les groupes contaminés. Le mélange final est formé en petits coupeaux individuelles de 12 g qui ont été séchés à l'étuve à 70 °C pendant 72 h (Figure 5).

Les rats recevez quotidiennement 2 apports alimentaires pendant une durée de 3 mois. Le premier apport correspond au régime alimentaire expérimentale (coupeaux individuelles témoins ou contaminés). Après le contrôle de la consommation totale du régime expérimental ; les rats recevez le deuxième apport correspond au régime alimentaire standard. Ceci permet d'assuré la consommation de la totalité du régime contaminé et donc des doses ingérées.

La purée de pomme été préparé de façon régulière ; les pommes été laver avec de l'eau claire, couper en morceaux et bouillies dans de l'eau à 100°C pendant 10 min puis mixer avec un bras mixeur jusqu'à obtenir une consistance lisse et homogène. Pour la préparation de chaque dose ; une quantité appropriée du produit a été pesé puis dissoute dans 1 ml d'huile de tournesol qui sera par la suite incorporé au régime alimentaire. Le groupe consommant le régime alimentaire contaminé avec la dose DL50/1000 (5 mg/kg) correspond au lot D et le groupe consommant le régime alimentaire contaminé par la dose NOAEL (6,5 mg/kg) correspond au lot N.

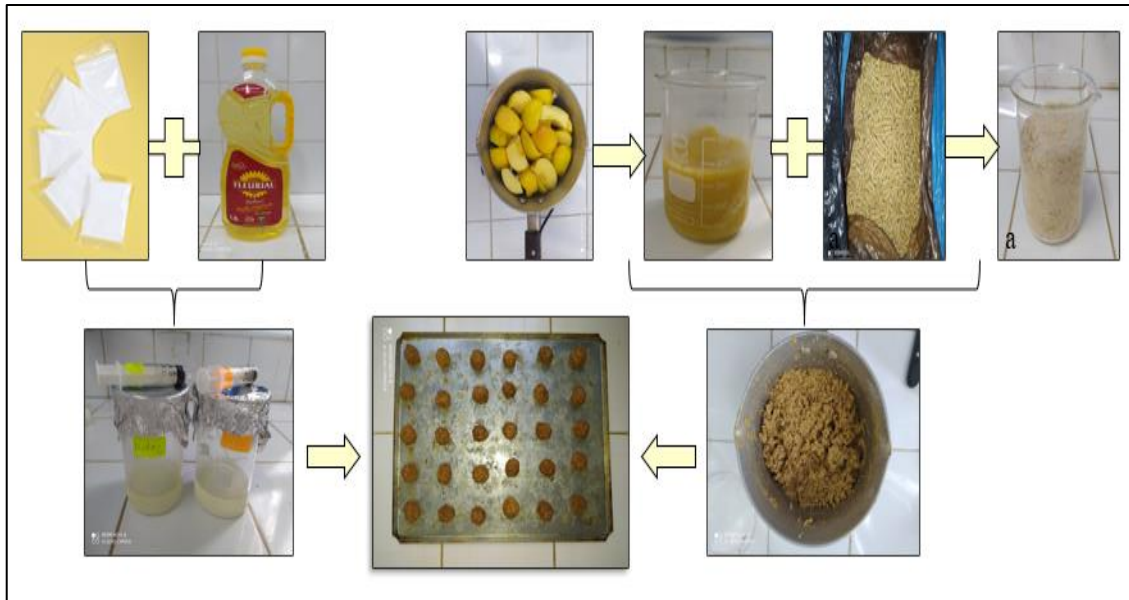


Figure 5. Etapes de préparation du régime alimentaire.

Les rats ont été pesés de façon hebdomadaire et observés pour des éventuels signes d'intoxication ou de morbidité. A la fin de l'expérimentation ; les rats ont été décapités à vif et le sang a été récolté dans des tubes EDTA et secs pour les analyses biochimique, métabolique, hématologique, et hormonale. Les organes ont été prélevés, dégraissés, nettoyés à l'eau physiologique à 0,9 %, et pesés ; une partie a été stockée à froid pour les mesures des paramètres du stress oxydant et une partie a été fixée dans du Formol aldéhyde à 10 % pour la réalisation des coupes histologiques (Figure 6).



Figure 6. Dissection d'un rat traité à la fin de l'expérimentation.

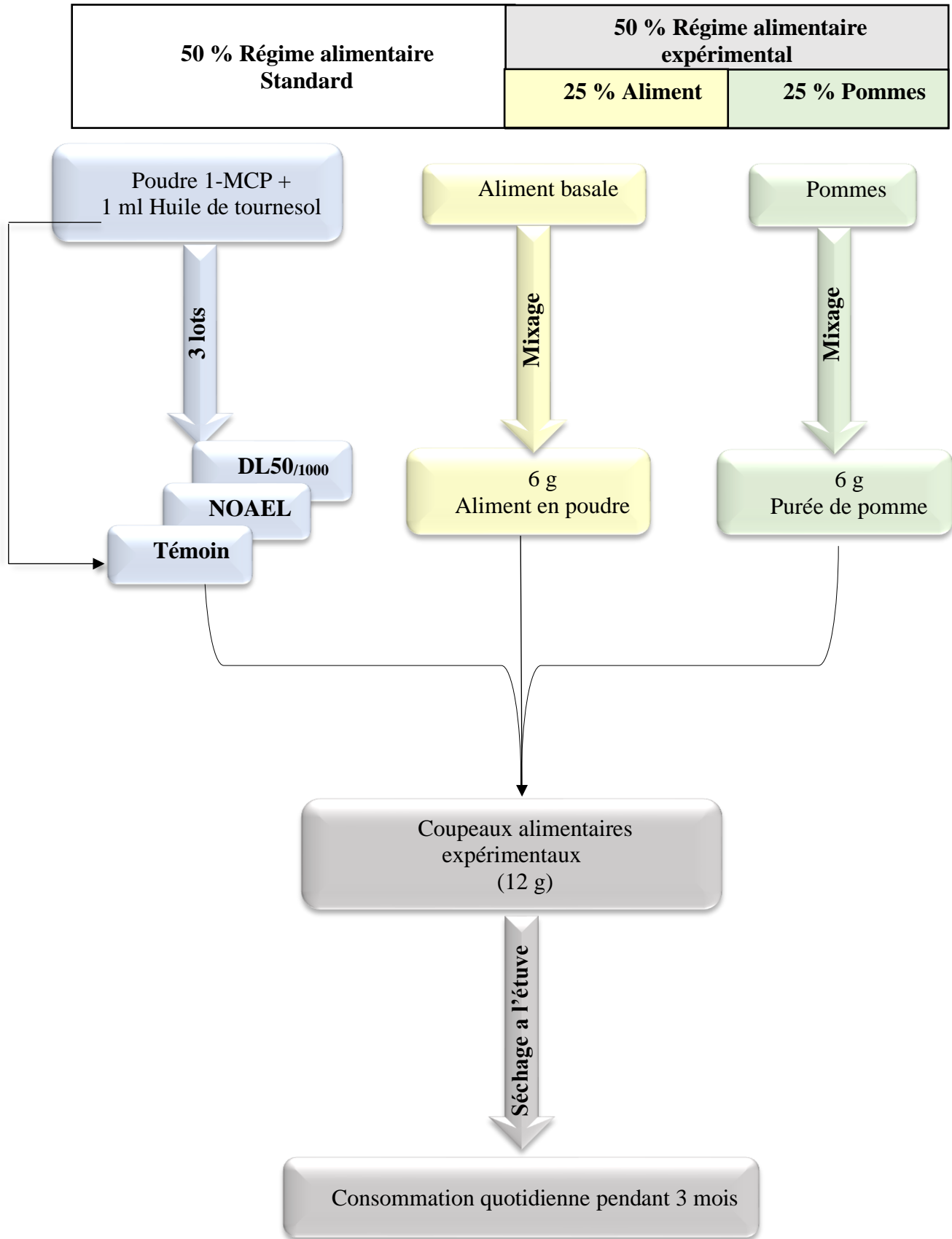


Figure 7. Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

## 2.2. Analyses sanguines

### 2.2.1. Mesure des paramètres hématologiques.

Une formule de numérotation sanguine a été réalisée au niveau du laboratoire d'analyses médicales Al-Moussa, Annaba, Algérie.

### 2.2.2. Mesure des paramètres biochimiques.

Réalisées au niveau du laboratoire d'Analyses Médicales LAABED, Annaba, Algérie. les paramètres biochimiques de la fonction hépatique et rénale ainsi que les paramètres du métabolisme glucidique et lipidique ont été réalisés à l'aide d'un automate mindray BS-240 ; un analyseur clinique de chimie multifonctionnel de paillasse (Figure 8).



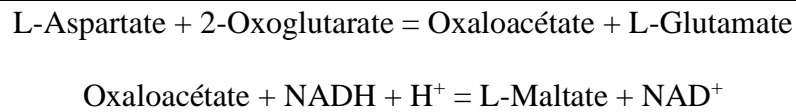
Figure 8. Automate mindray BS-240.

#### 2.2.2.1. Paramètres biochimiques de la fonction hépatique.

La mesure de l'activité des transaminases à savoir ; l'Aspartate Amino-Transférase (ASAT) et l'Alanine Amino-Transférase (ALAT) ont été réalisées selon les normes de BIOLABO et la mesure de la bilirubine selon les normes de BioSystems.

#### ➤ Mesure de l'activité ASAT :

**Principe de la méthode :** La méthode de mesure est optimisée par [Henry et al., 1960](#) et conforme aux recommandations de l'IFCC selon le schéma réactionnel suivant :



**Mode opératoire :** Les réactifs nécessaires à la réalisation de la méthode de mesure de l'ASAT sont présentés au niveau du tableau 3.

Tableau 5. Réactifs utilisés dans la mesure de l'ASAT.

Réactif	Concentration
EDTA (mmol/L)	5
2-Oxoglutarate (mmol/L)	12
L-Aspartate (mmol/L)	200
MDH (UI/L)	495
LDH (UI/L)	820
NADH (mmol/L)	≤ 0,18
Tampon tris (mmol/L)	80

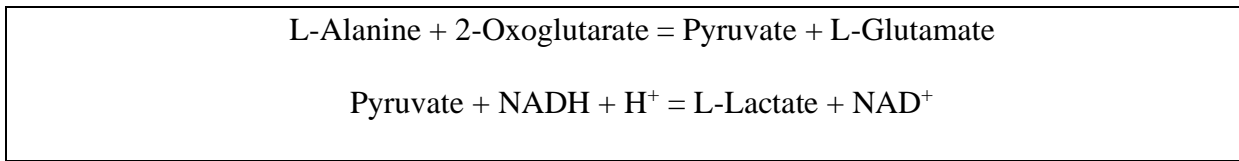
- ✓ Ramener les réactifs et spécimens à température ambiante.
- ✓ Mettre dans un tube à essai 1000 µL du mélange du réactif et 100 µL de la solution standard ou de l'échantillon.
- ✓ Mélanger et lire l'absorbance initiale après une 1 minute à 340 nm puis toutes les minutes pendant 3 minutes.
- ✓ Calculer la moyenne des variations d'absorbance par minute.

**Calcule :**

$$\text{Activité ASAT}_{\text{Echantillon}} \text{ (U/L)} = ((\Delta \text{ Abs/min})_{\text{Echantillon}} / (\Delta \text{ Abs/min})_{\text{Calibrant}}) \times \text{Activité}_{\text{Calibrant}}$$

➤ **Mesure de l'activité ALAT :**

**Principe de la méthode :** La méthode utilisée est développée par (Henry et al., 1960).  
conforme aux recommandations de l'IFCC selon le schéma réactionnel suivant :



**Mode opératoire :** Les réactifs utilisés dans cette méthode doivent être manipulés dans un pH égal à  $7,5 \pm 0,1$  et à une température de  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  (Tableau 4).

Tableau 6. Réactifs utilisés dans la méthode de mesure de l'activité ALAT.

Réactif	Concentration
2-Oxoglutarate (mmol/L)	15
L-Alanine (mmol/L)	500
LDH (UI/L)	$\leq 1600$
NADH (mmol/L)	$\leq 0,18$
Tampon Tris (mmol/L)	100

- ✓ Ramener les réactifs et spécimens à température ambiante.
- ✓ Introduire dans une cuve de lecture de 1 cm de trajet optique 1ml du mélange de réactif et équilibré la température à  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ .
- ✓ Rajouté 100  $\mu\text{L}$  de l'échantillon ou de la solution standard et mélanger après 1 minute.
- ✓ Enregistré l'absorbance initiale à 340 nm puis toutes les minutes pendant 3 minutes.
- ✓ Calculer la moyenne des variations d'absorbance par minute.

**Calcul :**

$$\text{Activité ALAT}_{\text{Echantillon}} \text{ (UI/L)} = ((\Delta\text{Abs}/\text{min})_{\text{Echantillon}} / (\Delta\text{Abs}/\text{min})_{\text{Calibrant}}) \times C_{\text{calibrant}}$$

➤ **Mesure de la Bilirubine Totale :**

**Principe de la méthode :** La bilirubine directe présente dans l'échantillon réagit avec l'acide sulfonique diazoïque pour donner un complexe coloré qui peut être quantifié par

spectrophotométrie. Le cétimide solubilise la bilirubine indirecte en permettant ainsi sa réaction en même temps que la fraction directe. Les termes ‘‘directe’’, ‘‘indirecte’’, et ‘‘totale’’ se rapportent aux caractéristiques de réaction en présence ou absence de solubilisant (accélérateurs).

**Mode opératoire :** Les réactifs chimiques utilisés lors de la réalisation de cette méthode sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 7. Réactifs utilisés dans la méthode de mesure de la bilirubine.

Réactif	Concentration
Acide sulfaniqué (mmol/L)	29
Acide chlorhydrique (mmol/L)	0,2
Cétrimide (mmol/L)	50
Nitrite de sodium (mmol/L)	11,6

✓ Pipter dans des tubes a essais :

	Blanc réactif	Blanc échantillon	Echantillon	Etalon
Eau distillé (µL)	100	-	-	-
Echantillon (µL)	-	100	100	-
Etalon (µL)	-	-	-	100
Réactif (ml)	-	1	-	-
Réactif de travail (ml)	1	-	1	1

- ✓ Bien agiter et laisser reposer les tubes pendant 2 minutes à température ambiante.
- ✓ Lire l'absorbance (A) de l'échantillon blanc contre l'eau distillé a 540 nm.
- ✓ Lire l'absorbance (A) de l'échantillon et de l'étalon contre de réactif blanc à 540 nm.

**Calcule :**

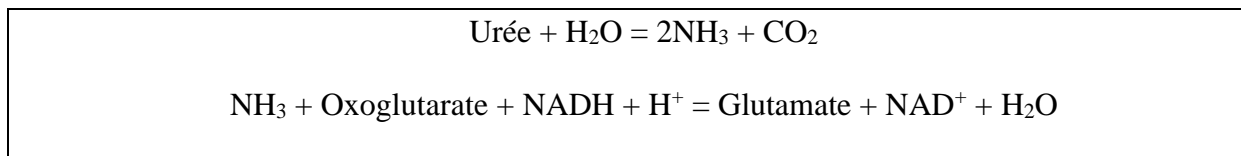
$$\text{Concentration Bilirubine Echantillon (mg/dL)} = (A_{\text{Echantillon}} - A_{\text{blanc Echantillon}} / A_{\text{Etalon}}) \times C_{\text{Etalon}}$$

### 2.2.2.2. Paramètres biochimiques de la fonction rénale.

La détermination de la concentration de l'urée été réalisée selon les normes de BIOLABO et la détermination de la concentration de la créatinine et de l'acide urique selon les normes de SPINREACT.

#### ➤ Détermination de la concentration de l'urée :

**Principe de la méthode :** c'est une méthode enzymatique basée sur la réaction directe selon la méthode de [Tiffany et al., 1972](#) La diminution de l'absorbance due a la conversion du NADH en NAD<sup>+</sup> mesurée pendant un temps donnée à 340 nm est proportionnelle a la concentration en urée dans le spécimen. Le schéma de la réaction est le suivant :



**Mode opératoire :** les réactifs utilisés dans cette méthode sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 8. Réactifs utilisés dans la méthode de détermination de la concentration de l'urée.

Réactif	Composant	Concentration
<b>R1 : Tampon Tris</b>	Tris pH 7,9 ± 0,1 (30 °C) (mmol/L)	80
	Oxoglutarate (mmol/L)	5
<b>R2 : Enzymes coenzyme</b>	NADH (mmol/L)	≥ 0,2
	Uréase (UI/L)	20000
	GLDH (UI/L)	≥ 1200
<b>R3 : Etalon</b>	Urée (g/L)	0,40

- ✓ Faire le 0 du spectrophotomètre sur de l'eau déminéralisée a 340 nm.
- ✓ Dans une cuve thermostatée a 30 °C ou 37 °C rajouté :
- ✓ Pour l'échantillon a dosé : 1 ml de réactif et 10 µL de l'échantillon.
- ✓ Pour l'étalon : 1 ml de réactif et 10 µL d'étalon

- ✓ Mélanger et lire l'absorbance a 340 nm.
- ✓ 1<sup>ère</sup> lecture A1 a 30 secondes et 2<sup>ème</sup> lecture A2 a 90 secondes.

**Calcule :**

$$\text{Concentration Urée Echantillon (g/L)} = (\text{Abs (A1-A2)}_{\text{Echantillon}} / \text{Abs (A1-A2)}_{\text{Etalon}}) \times C_{\text{Etalon}}$$

➤ **Détermination de la concentration de la créatinine :**

**Principe de la méthode :** Le test de la créatinine repose sur la réaction de la créatinine en contact avec le picrate de sodium. La créatinine réagit avec le picrate alcalin en formant un complexe rougeâtre. L'intervalle de temps choisi pour les lectures permet d'éliminer la plupart des interférences connues de la méthode. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de créatinine présente dans l'échantillon testé.

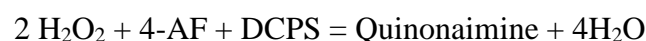
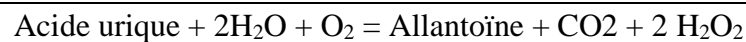
**Mode opératoire :** les réactifs utilisés dans la méthode de détermination de la concentration de la créatinine sanguine est présenté dans le tableau 7.

Tableau 9. Réactifs utilisés dans la méthode de détermination de la créatinine sanguine.

Réactif	Composant	Concentration
<b>R1 : Réactif picrique</b>	Acide picrique (mmol/L)	17,5
<b>R2 : Réactif alcalinisant</b>	Hydroxyde de sodium (mol/L)	0,29

➤ **Détermination de la concentration de l'acide urique :**

**Principe de la méthode :** L'acide urique est oxydé par l'uricase à l'allantoïne et le peroxyde d'hydrogène (2 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) qui, en présence de la peroxydase (POD), 4- aminophénazone (4-AF) et du 2-4 Diclorophénol sulphonate (DCPS) forme un composé rosacé. L'intensité de quinonaimine rouge formée est proportionnelle à la concentration d'acide urique présente dans l'échantillon testé.



**Mode opératoire :** Les réactifs utilisés sans la méthode de détermination de la concentration de l'acide urique sont présentés dans le tableau 8.

Tableau 10. Réactifs utilisés dans la méthode de détermination de l'acide urique.

Réactif	Composant	Concentration
<b>R1 : Tampon</b>	Phosphates Ph 7,4 (mmol/L)	50
	2-4 Dichlorophénol sulphonate (mmol/L)	4
<b>R2 : Enzymes</b>	Uricase (U/L)	60
	Peroxydase (U/L)	660
	Ascorbate oxydase (U/L)	200
	4-Aminophénazone (mmol/L)	1
<b>Acide urique</b>	Patron primaire de détection d'acide urique (mg/dL)	6

- ✓ Pour la préparation du réactif de travail (RT) ; dissoudre le contenu d'une capsule d'enzymes (R2) dans un peu de tampon (R1).
- ✓ fermer et mélanger doucement jusqu'à dissoudre le contenu.
- ✓ Pipeter dans une cuvette :

	Blanc	Modèle	Echantillon
<b>RT (mL)</b>	1	1	1
<b>Modèle (µL)</b>	-	25	-
<b>Echantillon (µL)</b>	-	-	25

- ✓ Mélanger et incuber pendant 5 minutes à 37°C ou 10 minutes à 15-25°C.
- ✓ Lire l'absorbation (a) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif (La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes).

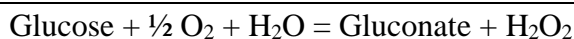
**Calcule :**

$$C_{\text{acide urique}} \text{ (mg/dL)} = (A_{\text{Echantillon}} / A_{\text{Modèle}}) \times 6 \text{ (concentration modèle)}$$

### 2.2.2.3. Paramètre du métabolisme glucidique.

La détermination du taux de glucose dans le sang a été réalisée selon les normes de BioSystems.

**Principe de la Méthode :** Le glucose présent dans l'échantillon donne, selon les réactions couplées décrites ci-dessous un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie.



**Mode opératoire :** Les réactifs utilisés dans la méthode de détermination du taux de glucose dans le sang sont présentés au niveau du tableau 9.

Tableau 11. Réactifs utilisés dans la méthode de détermination du taux de glucose.

Réactif	Composant	Concentration
<b>Réactif (A)</b>	Phosphate (mmol/L)	100
	Phenol (mmol/L)	5
	Glucose oxydase (U/mL)	> 10
	Peroxydase (U/mL)	1
	4-Aminoantipyrine (mmol/L)	0,4
<b>Etalon (S)</b>	Glucose (mg/dL)	100

- ✓ Placer les réactifs à température ambiante
- ✓ Pipeter dans des tubes a essais :

	Blanc	Etalon	Echantillon
<b>Etalon glucose (S)</b>	-	10 µL	-
<b>Echantillon</b>	-	-	10 µL
<b>Réactif (A)</b>	1 mL	1 mL	1 MI

- ✓ Bien agiter et incuber les tubes pendant 10 minutes a température ambiante (16 – 25 °C) ou pendant 5 minutes à 37 °C.

- ✓ Lire l'absorbance (A) de l'étalon et de l'échantillon face au blanc à 500 nm (la couleur est stable au moins 2 heures).

**Calcule :**

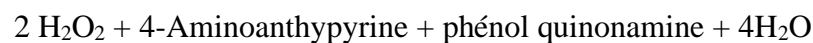
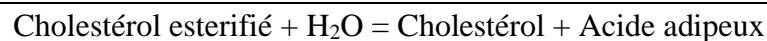
$$C_{\text{Echantillon}} (\text{g/L}) = (A_{\text{Echantillon}} / A_{\text{Etalon}}) \times C_{\text{Etalon}}$$

#### 2.2.2.4. Paramètres du métabolisme lipidique.

La détermination du taux de cholestérol total a été réalisés selon les normes de BioSystems et le taux de triglycérides selon les normes de SPINREACT.

##### ➤ Détermination du taux de cholestérol total

**Principe de la méthode :** Le cholestérol libre et esterifié présent dans l'échantillon proviennent d'un complexe coloré qui est quantifié par spectrophotométrie.



**Mode opératoire :** réactifs utilisés dans la méthode de détermination du taux de cholestérol total dans le sang sont présentés dans le tableau 10.

Tableau 12. Réactifs utilisés dans la méthode de détermination du taux de cholestérol total.

Réactif	Composant	Concentration
<b>Réactif (A)</b>	Colate de sodium (mmo/L)	0,5
	Phénol (mmol/L)	28
	Cholestérol estérase (U/mL)	> 0,2
	Cholestérol oxidase (U/MI)	> 0,1
	Peroxidase (U/mL)	> 0,8
	4-aminoanthypyrine (mmol/L)	0,5
<b>Etalon (S)</b>	Cholestérol (mg/dL)	200

- ✓ Réalisé le test dans une température ambiante

- ✓ Pipeter dans des tubes à essai :

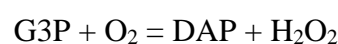
	Blanc	Standard	Echantillon
<b>Standard Cholestérol (S)</b>	-	10 µL	-
<b>Echantillon</b>	-	-	10 µL
<b>Réactif (A)</b>	1 mL	1 mL	1 mL

- ✓ Bien agiter et incubé les tubes pendant 20 minutes à température ambiante (16 – 25 °C) ou pendant 5 minutes à 37 °C.
- ✓ Lire les absorbances (A) du standard et de l'échantillon par a port au blanc a 500 nm (la couleur est stable pendant 2 heures).

**Calcule :**  $C_{\text{Cholestérol}} \text{ (mg/dL)} = (A_{\text{Echantillon}} / A_{\text{standard}}) \times \text{Concentration}_{\text{standard}}$

➤ **Détermination du taux de triglycérides :**

**Principe de la méthode :** Les triglycérides incubés avec de la lipoprotéinlipase (LPL) libèrent du glycérol et des acides gras libres. Le glycérol est phosphorylé par du glycérophosphate déshydrogénase (GPO) et de l'ATP en présence de glycérol kinase (GK) pour produire du glycérol-3-phosphate (G3P) et de l'adénosine-5-di phosphate (ADP). Le G3P est alors transformé en dihydroxiacétone phosphate (DAP) et en peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) par le GPO. Au final, le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> réagit avec du 4-aminophénazone (4- AF) et du p-chlorophénol, réaction catalysée par la peroxydase (POD), ce qui donne une couleur rouge. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration des triglycérides présents dans l'échantillon testé.



**Mode opératoire :** Les réactifs utilisés dans la méthode de détermination du taux de triglycérides sont présentés dans le tableau 11.

Tableau 13. Réactifs utilisés dans la méthode de détermination du taux de triglycérides.

Réactif	Composant	Concentration
<b>R1 : Tampon</b>	GOOD Ph 7,5 (mmol/L)	50
	p-Chlorophénol (mmol/L)	2
<b>R2 : Enzymes</b>	Lipoprotéines lipase (U/L)	150000
	Glycérol kinase (U/L)	500
	Glycérol-3-oxydase (U/L)	2500
	Peroxydase (U/L)	440
	4-Aminophénazone (mmol/L)	0,1
	ATP (mmol/L)	0,1
<b>Triglycérides</b>	Patron primaire de détection de triglycérides (mg/dL)	200

- ✓ Pour préparer le Réactif de travail (RT): Reconstituer le contenu d'une capsule d'enzymes R 2 dans 10 mL de tampon R 1.
- ✓ Refermer et agiter doucement jusqu'à ce que le contenu soit dissout.
- ✓ Pipetter dans une cuvette:

	Blanc	Modèle	Echantillon
<b>RT</b>	1 mL	1 mL	1 mL
<b>Modèle</b>	-	10 $\mu$ L	-
<b>Echantillon</b>	-	-	10 $\mu$ L

- ✓ Mélanger et incuber 5 minutes a 37°C ou 10 min. à température ambiante.
- ✓ Lire l'absorbation (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du Réactif (La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes).

**Calcule :**

$$C_{\text{Triglycérides}} (\text{mg/dL}) = A_{\text{Echantillon}} / A_{\text{Modèle}} \times 200 (\text{concentration}_{\text{modèle}})$$

### 2.2.3. Mesure des paramètres hormonaux.

La mesure des taux de testostérone été réalisée selon les normes de MAGLUMI.

**Principe de la méthode :** C'est un dosage immuno-lumino-métrique compétitif qui utilise un anticorps monoclonal anti-testostérone pour marquer l'ABEI et un antigène testostérone purifié pour marquer le FITC. L'échantillon, l'étalon ou le contrôle avec étiquette ABEI, le réactif de déplacement, le marqueur FITC et les microbilles magnétiques revêtues d'anti-FITC sont soigneusement mélangés et incubés à 37 °C, formant des complexes anticorps-antigène ; après sédimentation dans un champ magnétique, le surnageant est décanter et laver. Ensuite, les réactifs sont ajoutés et une réaction de chimioluminescence éclairée est initiée. Le signal lumineux est mesuré par un photomultiplicateur les 3 secondes qui suivent et est proportionnel à la concentration de testostérone présente dans les échantillons.

**Mode opératoire :** les réactifs utilisés dans la méthode de mesure du taux de testostérone sont présentés dans le tableau 12.

Tableau 14. Réactifs utilisés dans la méthode de mesure du taux de testostérone.

Réactif intégral pour 100 déterminations	Volume
Microbilles nano-magnétiques : 1,2 % Tampon Tris, 0,2 % NaN <sub>3</sub> , recouverte avec des anticorps poly clonal anti-FITC	2,5 mL
Calibrateur : sérum bovin, 0,2 % NaN <sub>3</sub>	5 mL
Réactif de déplacement : Tampon Tris (0,5 % ANS, 0,2 % NaN <sub>3</sub> )	4,5 mL
Marque FITC : antigène testostérone purifié marqué FITC (BSA, 0,2 % NaN <sub>3</sub> )	6,5 mL
Marque ABEI : anti-anticorps anti-testostérone monoclonal marqués ABEI (BSA, 0,2 % NaN <sub>3</sub> )	6,5 mL

Mettre dans des tubes à vides :

- ✓ 40 µL de l'échantillon
- ✓ 20 µL du réactif de déplacement
- ✓ 40 µL marque ABEI

- ✓ 40  $\mu\text{L}$  marque FITC
- ✓ 20  $\mu\text{L}$  Microbilles nano-magnétiques
- ✓ Incubation pendant 15 min.
- ✓ Cycle de lavage à 400  $\mu\text{L}$
- ✓ Mesure après 3 secondes.

**Calcul :** L'analyseur ; un système d'immuno-analyse par chimiluminescence (CLIA), Modèle MAGLUMI 800 (Figure 9) calcule automatiquement la concentration de testostérone dans chaque échantillon, les résultats sont exprimés en ng / mL.



Figure 9. Système d'immuno-analyse par chimiluminescence ; MAGLUMI 800.

### ***2.3. Mesure du stress oxydant***

Les paramètres du stress oxydatif à savoir ; la glutathion réduit (GSH), la glutathion-s-transférase (GST), la glutathion peroxydase (GPx), la catalase (CAT), le malondialdéhyde (MDA), et la superoxyde dismutase (SOD) dans le foie et les testicules ont été mesurés par des méthodes colorimétriques présentées ci-dessous au niveau du laboratoire de biosurveillance environnementale à l'université de Badji Mokhtar-Annaba.

### 2.3.1. Dosage des protéines.

**Principe de la méthode :** Selon la méthode de Bradford, le bleu de coomassie est un colorant qui ; sous sa forme libre a une couleur rougeâtre. en se liant avec les protéines présentes dans le milieu se transforme en bleu ainsi l'intensité de la couleur est détectable a une longueur d'onde de 595 nm. (Bradford, 1976).

#### Préparation des solutions :

- ✓ **1 mg/ml solution mère Bovine Sérum Albumine (BSA) :** 1 mg de BSA dilué dans d'eau distillé (stockage à -20 °c dans des petits volumes).
- ✓ **Colorant Bleu de Coomassie :** 100 mg de Bleu de Coomassie dillé dans 50 ml éthanol à 96 % et 100 ml d'acide ortho-phosphorique a 85 % (w/v)
- ✓ Compléter 1 L avec l'eau distillée.
- ✓ Filtration avec papier Whatman No. 1
- ✓ Stockage à température ambiante dans une bouteille ambré.

#### Réalisation de la gamme d'étalonnage :

- ✓ à partir de la solution mère de BSA a concentration 1 mg/ml ; prendre des volumes égaux a 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 µl et compléter avec l'eau distillé a 100 µl pour obtenir des solutions filles (étalons) (Figure 10).
- ✓ Pipeté 100 µl d'eau distillé dans un tube à essai vide pour faire le blanc.

Tableau 15. Etapes de préparation des étalons.

<b>Etalons</b>	<b>Volume S<sub>mère</sub></b>	<b>Volume du solvant</b>	<b>Concentration finale C<sub>filie</sub></b>
<b>1</b>	10 µL	90 µL	100 µg/mL
<b>2</b>	20 µL	80 µL	200 µg/mL
<b>3</b>	30 µL	70 µL	300 µg/mL
<b>4</b>	40 µL	60 µL	400 µg/mL
<b>5</b>	50 µL	50 µL	500 µg/mL
<b>6</b>	60 µL	40 µL	600 µg/mL
<b>7</b>	70 µL	30 µL	700 µg/mL
<b>8</b>	80 µL	20 µL	800 µg/mL
<b>9</b>	90 µL	10 L	900 µg/mL
<b>10</b>	100 µL	-	1 mg/mL

- ✓ Ajouter 5 ml du réactif Bleu de Coomassie dans chaque tube etalon.
- ✓ Bien mélanger par inversion ou vortex doux sans mousser.
- ✓ Mesurer l'Absorbance a 595 nm des standards de protéines par rapport au blanc entre 5 et 60 minutes après le mélange.
- ✓ Effectuer la courbe d'étalonnage (les protéines sont exprimées en  $\mu\text{g}$ ).

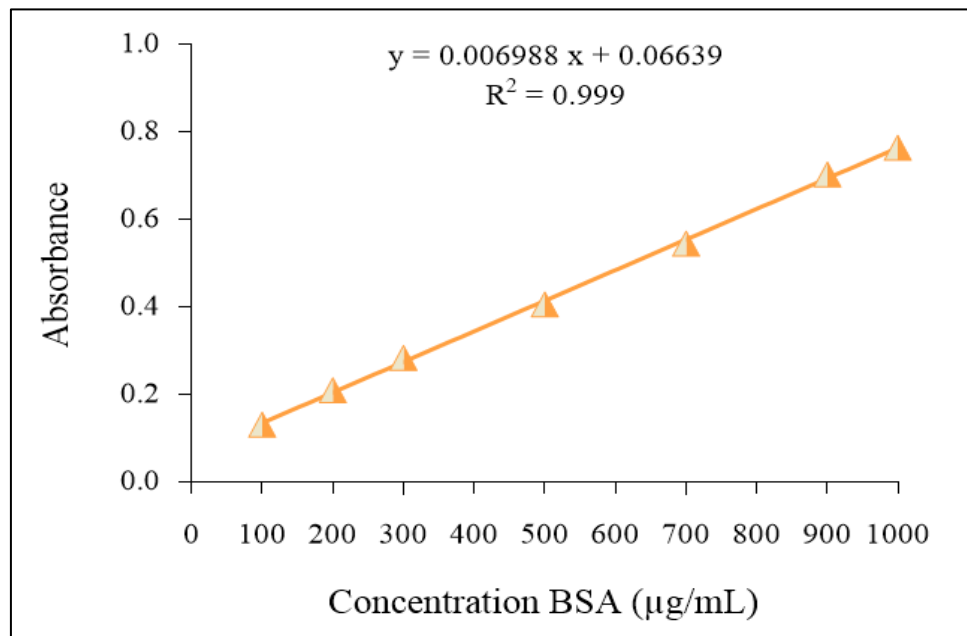


Figure 10. Gamme d'étalonnage du Sérums Bovine Albumine (BSA).

### Dosage des protéines :

- ✓ homogénéisation de 10 % w : v du tissu avec un tampon sodium phosphate (pH 7) par un broyage mécanique ensuite par homogénéisation ultrason.
- ✓ centrifugation de l'homogénat a 9000 rpm pendant 15 min à 4°C.
- ✓ Dans un tube à essai ; ajouté 100  $\mu\text{L}$  du surnageant (échantillon) ou 100  $\mu\text{L}$  eau distillé (blanc).
- ✓ Rajouter 5 ml du réactif Bleu de Coomassie
- ✓ Bien mélanger par inversion ou vortex doux sans mousser.
- ✓ Mesurer l'Absorbance a 595 nm des échantillons par rapport au blanc entre 5 et 60 minutes après le mélange dans des cuves en plastique.
- ✓ Déduire les quantités de protéines contenus dans les échantillons a partir de la gamme d'étalonnage réalisé au paravent.

### 2.3.2. Mesure de la glutathion réduct (GSH).

**Principe de la méthode :** selon la méthode d'ellman, l'acide 5-dithiobis 2-nitrobenzoic (DTNB) est réduit par les groupements sulfhydryles ; à savoir le glutathion réduct (GSH) présent dans le milieu pour produire de l'acide 2-nitro 5-mercaptobenzoic (Figure 11) ; ce dernier possède une couleur jaune intense détectable a une longueur d'onde de 412 nm (Ellman, 1959).

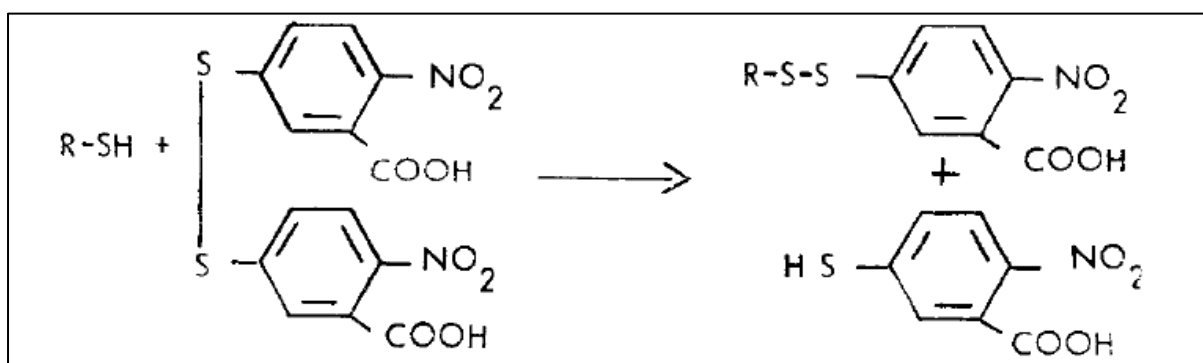


Figure 11. Réaction de mesure de la GSH. (Sedlak & Lindsay, 1968).

**Préparation des solutions :** les réactifs et solutions utilisés lors de la méthode de mesure de la teneur cellulaire en GSH sont présentés dans le tableau 14.

Tableau 16. Solutions utilisés dans la méthode d'Ellman, 1959.

Solution	Quantité de produit	Volume du solvant
<b>0.01 M de DTNB (5-dithiobis 2-nitrobenzoic acid)</b>	99 mg DTNB	25 mL Méthanol
<b>0.2 M EDTA</b>	11,68 g EDTA	100 mL Eau distillé
<b>0.02 M EDTA</b>	58,44 mg EDTA	10 mL eau distillé
<b>1M HCl</b>	3,64 g HCL	100 mL eau distillé
<b>0.4 M de tampon Tris (pH 8.9)</b>	48,45 g Tris	100 mL 0,2 M EDTA complété a 1 L d'eau distillé
<b>5 % TCA (TriChloroacetic Acid)</b>	5 g TCA	100 mL eau distillé

**Mode opératoire :**

- ✓ Homogénéisation de 200 de l'organe avec 8 mL de 0.02 M EDTA par un homogénéisateur rotatif ensuite par homogénéisateur ultrason dans un bain de glaçons
- ✓ Centrifugation de 5 ml de l'homogénat obtenus avec 4 mL d'Eau distillé et 1 mL de 5% TCA a 3000 rpm pendant 5 min.
- ✓ Dans un tube à essai, ajouté :
- ✓ 2 mL du surnageant (échantillon) ou bien 2 ml d'eau distillé ou tampon (Blanc)
- ✓ 4 mL du tampon Tris (Ph 8.9)
- ✓ 0.1 mL DTNB et secoué
- ✓ La couleur est stable pendnat 15 minutes.
- ✓ Lecture d'absorbance a 412 nm 5 min après rajout du DTNB dans une cuve en quartz de 1 cm.

**Calcule :** Concentration GSH (mmol/mg prot) = (Absorbance Echantillon) x D / ( $\epsilon$  x l x C)

D : Facteur de dilution

E : Facteur d'extinction molaire du DTNB ( $13600 \text{ M}^{-1}/\text{cm}^{-1}$ ).

I : Longueur de la cuve en cm (1 cm)

C : Quantité de protéines contenus dans l'échantillon en mg

### 2.3.3. Mesure de la glutathion-s-transférase (GST).

**Principe de la méthode :** selon la méthode de Habig, l'enzyme GST catalyse une réaction de conjugaison du groupement sulfhydrile de la GSH avec le 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB). L'étendue de la conjugaison provoque un changement de l'absorbance à 340 nm qui est proportionnel à l'activité de la GST dans l'échantillon (Habig et al., 1974).

**Préparation des réactifs :** les solutions et réactifs utilisé dans la méthode de mesure de l'activité de la GST sont présentés au niveau du tableau 15.

Tableau 17. Solutions utilisées dans la méthode de Habig,1974.

Solution	Quantité de produit	Volume du solvant
<b>0.1 M Tampon sodium phosphate (pH 6,5)</b>	4,27 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4$	1 L d'eau distillé
	8,38 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4$	
<b>1 Mm GSH (Glutathion réduit)</b>	15,36 mg GSH	50 mL eau distillé
<b>1 Mm CDNB (1-chloro-2,4-dinitrobenzene)</b>	10,12 g CDNB	5 mL Ethanol a 96 %

**Mode opératoire :**

- ✓ Homogénéisation par broyage mécanique de 0,5 g de tissu avec 5 mL tampon puis passé à l'homogénéisateur ultrason
- ✓ Centrifugation 5000 rpm pendant 10 minutes.
- ✓ Dans des tubes à essai mettre :
- ✓ 1.5 ml tampon sodium phosphate
- ✓ 0.2 ml GSH
- ✓ 0.02 ml CDNB
- ✓ 0.1 ml du surnageant (échantillon) ou 0.1 ml eau distillé (blanc).
- ✓ Lecture d'absorbance a 340 nm pendant 5 min à une température de 25 °C.

**Calcule :**

$$\text{Activité GST } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) = \frac{((\Delta \text{ Absorbance}_{\text{Echantillon}} - \Delta \text{ Absorbance}_{\text{Blanc}}) \times D)}{(\epsilon \times l \times C)}$$

$\Delta$  Absorbance : moyenne des absorbances pendant 5 min.

D : Facteur de dilution

E : Facteur d'extinction molaire du CDNB ( $9.6 \text{ M}^{-1}/\text{cm}^{-1}$ ).

I : Longueur de la cuve du spectrophotomètre (1 cm)

C : Quantité de protéines contenus dans l'échantillon en mg

**2.3.4. Mesure de la glutathion peroxydase (GPx).**

**Principe de la méthode :** selon la méthode de Hafeman, l'enzyme GPx dégrade le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) en 2 molécules d'eau, en utilisant la GSH présente dans le milieu. La mesure de l'absorbance à 412 nm détermine la quantité de GSH restante dans le milieu qui est inversement proportionnelle à l'activité du GPx dans l'échantillon (Hafeman et al., 1974).

**Préparation des réactifs :** les réactifs et solutions utilisés dans la méthode de mesure de la GPx sont présentés au niveau du tableau 16.

Tableau 18. Solutions utilisées dans la méthode de [Hafeman, 1974](#).

Solution	Quantité de produit	Volume du solvant
<b>0.4 M Tampon sodium phosphate (pH 7)</b>	32.76962 g Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 20.29618 g NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 L d'eau distillé
<b>0.15 M KCl</b>	1,11 KCl	100 ml eau distillé
<b>0.01 M NaN<sub>3</sub> (sodium azide)</b>	6,50 mg NaN <sub>3</sub>	10 ml eau distillé
<b>1.25 Mm H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	0.01 ml H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> A 30 %	1 L d'eau distillé
<b>2 Mm GSH</b>	12.29 mg	50 ml eau distillé
<b>0.01 M DTNB</b>	40 mg DTNB	100 ml citrate tri-sodique 1%
<b>Acide métaphosphorique</b>	30 g NaCl 0,2 g EDTA 1,67 g Acide métaphosphorique glacial	100 ml eau distillé

**Mode opératoire :**

- ✓ Homogénéisation d'une masse définis de l'organe avec 4 volumes équivalents de 0.15 M KCl
- ✓ Dans un tube à essai mettre :
- ✓ 1 ml de 2 mM GSH
- ✓ 1 ml de 0.4 M Tampon sodium phosphate pH 7
- ✓ 0.50 ml de 0.01 M NaN<sub>3</sub>
- ✓ 0.03 ml d'homogénat
- ✓ Complété avec l'eau distillé jusqu'à 4 ml
- ✓ Pré incubation dans un bain marie pendant 5 min a 37°C.
- ✓ Ajouté 1 ml de 1.25 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (pré-réchauffer a 37°C)
- ✓ Incubation pendant 3 min a 37°C.
- ✓ 1 ml du mélange d'incubation est ajouté à 4 ml d'une solution d'acide métaphosphorique
- ✓ Centrifugation a 3000 rpm pendant 10 min.

- ✓ Mélangé 2 ml du surnageant (échantillon) 2 ml d'eau distillé (blanc) avec 2 ml de 0.4 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  et 1 ml de DTNB
- ✓ Lecture d'absorbance a 412 nm après 2 min du rajout du DTNB.

**Calcule :**

$$\text{Activité GPx (mmol/mg prot)} = ((\text{Absorbance}_{\text{Blanc}} - \text{Absorbance}_{\text{Echantillon}}) \times D) / (\epsilon \times l \times C)$$

D : Facteur de dilution

E : Facteur d'extinction molaire du DTNB ( $13600 \text{ M}^{-1}/\text{cm}^{-1}$ ).

I : Longueur de la cuve de spectrophotomètre (1 cm)

C : Quantité de protéines contenus dans l'échantillon en mg

### 2.3.5. Mesure du catalase (CAT).

**Principe de la méthode :** Selon la méthode de Cohen, 1970 amélioré par Abei, 1974. L'enzyme CAT décompose le  $\text{H}_2\text{O}_2$  en des molécules de  $\text{H}_2\text{O}$  et d' $\text{O}_2$  d'une part et déclenche l'oxydation des donneurs d'hydrogène tel que l'éthanol d'une autre part. La mesure d'absorbance a 240 nm permet de déterminé la diminution de la quantité du  $\text{H}_2\text{O}_2$  dans le temps et donc de l'activité de la catalase dans l'échantillon (Cohen et al., 1970 ; Abei, 1974).

**Préparation des solutions :** les réactifs et solutions nécessaires dans la méthode de mesure de l'activité de la catalase sont présentés au niveau du tableau 17.

Tableau 19. Solutions utilisées dans la méthode de Cohen, 1970.

Solution	Quantité de produit	Volume du solvant
<b>1M Tampon phosphate PBS (pH 7,4)</b>	8 g NaCl 200 mg KCl 1,44 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 240 mg $\text{KH}_2\text{PO}_4$	1 L d'eau distillé
<b>30 Mm <math>\text{H}_2\text{O}_2</math></b>	0,34 ml de 30 % $\text{H}_2\text{O}_2$	Complété a 100 ml d'eau distillé
<b>10 % Titron</b>	10 ml titron pure	Complété a 100 ml d'eau distillé
<b>0.17 M Ethanol</b>	0,1 ml éthanol	10 ml eau distillé

**Mode opératoire :**

- ✓ Homogénéisation de 1g du tissu avec 9 ml de tampon phosphate dans un bain de glaçon par un broyeur mécanique ensuite avec un homogénéisateur ultrason.
- ✓ Centrifugation de l'homogénat à 3000 rpm pendant 10 min.
- ✓ Ajouté 1/95 volume d'homogénat d'éthanol et laisser poser dans un bain de glaçon pendant 30 min
- ✓ Ajouté 1/8.9 volume d'homogénat du Triton X-100 à 10 %
- ✓ Dilution de 1 :100 de l'homogénat originale avec la solution tampon
- ✓ Dans un tube à essai ajouté :
- ✓ 2 ml du surnageant
- ✓ 1 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (échantillon) ou 1 ml de tampon (blanc)
- ✓ Mixer et placer dans une cuve en quartz de 1 cm (volume final 3 ml).
- ✓ Lecture de la diminution d'absorbance à 240 nm chaque 10 secondes pendant 1 min.

#### Calcule :

$$\text{Activité catalase } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) = \frac{((\Delta \text{ Absorbance}_{\text{Echantillon}} - \Delta \text{ Absorbance}_{\text{Blanc}}) \times D)}{(\epsilon \times l \times C)}$$

$\Delta$  Absorbance : moyenne des absorbances pendant 1 min

D : Facteur de dilution

E : Facteur d'extinction molaire du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (43.6 M<sup>-1</sup>/cm<sup>-1</sup>).

I : Longueur de la cuve du spectrophotomètre (1 cm)

C : Quantité de protéines contenus dans l'échantillon en mg

#### 2.3.6. Mesure du mano-dialdéhyde (MDA).

**Principe de la méthode :** selon la méthode de Ohkawa, le mano-dialdéhyde (MDA) est l'un de produits de la peroxydation lipidique qui réagit avec l'acide thio-barbiturique (TBA) pour former une couleur rouge dans le milieu. Cette dernière est détectable a une longueur d'onde de 532 nm et est proportionnelle a la concentration de l'MDA dans l'échantillon ([Ohkawa et al., 1979](#)).

**Préparation des réactifs :** les réactifs et solutions nécessaires pour la méthode de mesure de l'MDA sont présentés dans le tableau 18.

Tableau 20. Solutions utilisées dans la méthode [Ohkawa, 1979](#).

Solution	Quantité du produit	Volume du solvant
<b>20 % Acide acétique</b>	20 ml acide acétique	100 ml eau distillé
<b>0.8 % TBA (Acide thio-barbiturique)</b>	0.4 g TBA	50 ml eau distillé
<b>1.15 % KCl</b>	1.15 g KCl	100 ml eau distillé

**Mode opératoire :**

- ✓ Homogénéisation de 1 g de tissu dans 9 ml de 1.15 % KCl
- ✓ Dans des tubes à essai ajouté :
  - 1.5 ml de 20 % acide acétique
  - 1.5 ml 0.8 % solution aqueuse de l'Acide Thio-Barbiturique (TBA)
  - 0.1 ml de l'homogénat (échantillon) ou 0.1 ml d'eau distillé (blanc)
- ✓ Compléter a 4 ml avec l'eau distillé
- ✓ Chauffé la solution à 95 °C pendant 60 min sans un bain marie
- ✓ Refroidir les tubes avec l'eau de robinet
- ✓ Ajouté 1 ml d'eau distillé
- ✓ Ajouté 5 ml de n-butanol (1 :1 / v : v)
- ✓ Mélanger ou passé au vortex
- ✓ Centrifuger a 4000 rpm pendant 10 min
- ✓ Récupéré la couche supérieur formé
- ✓ Lecture d'absorbance dans une cuve en quartz de 1 cm à 532 nm.

**Calcul :**

$$\text{Concentration MDA (nmol/g de tissu)} = \text{Absorbance} \times D / (\epsilon \times l \times C)$$

D : Facteur de dilution

E : Facteur d'extinction molaire du TBA ( $0.156 \times 10^6 \text{ M}^{-1}/\text{cm}^{-1}$ ).

I : Longueur de la cuve du spectrophotomètre (1 cm)

C : Quantité de tissu utilisé dans l'homogénat en g

### 2.3.7. Mesure du superoxyde dismutase (SOD).

**Principe de la méthode :** Selon la méthode de Splitz et Oberley, 1989. La xanthine-xanthine oxydase a été utilisée pour générer un flux de superoxyde. le pourcentage d'inhibition de la réduction de la couleur bleu du nitrobleu tetrazilium (NBT) est suivi à 560 nm (Spitz et Oberley, 1989).

**Préparation des réactifs :** les réactifs et solutions nécessaires dans la méthode de mesure de la SOD sont présentés dans le tableau 19.

Tableau 21. Les solutions utilisées dans la méthode de Splitz et Obreley, 1989.

Solution	Quantité du produit	Volume du solvant
0.05 M Tampon potassium phosphate (pH 7,8)	7,44 g K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 0,98 g KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 L d'eau distillé
1.8 Mm xanthine		
2.24 Mm NBT (Nitrobleu tetrazilium)		
1.33 Mm DETAPAC		
40 U/ml catalase		
10 <sup>-2</sup> U/ml xanthine oxdase		

#### Mode opératoire :

- ✓ Homogénéisation d'une une masse définis du tissu avec 3 volumes de 0.05 M tampon potassium phosphate a Ph 7.8 avec un broyeur mécanique puis passé à l'homogénéisateur ultrason pendant 2 à 3 min.
- ✓ Centrifugation a 9000 rpm pendant 15 min.
- ✓ Pour faire un essai de 20 tubes ; ajouter dans une fiole Erlenmeyer :
  - 13 ml de 0.05 M tampon phosphate à Ph 7.8 avec 1.333 Mm DETAPAC
  - 0.50 ml catalase
  - 0.50 ml NBT
  - 1.70 ml Xanthine
  - 0.30 ml Tampon phosphate

- ✓ Mixer la solution.
- ✓ Aliquoté 0.8 ml de cette solution dans chaque tube
- ✓ Ajouté 100 µl de l'homogénat (l'échantillon) ou 100 µl du tampon phosphate (blanc).
- ✓ Ajouté 100 µl d'une solution de SOD pure (control).
- ✓ Ajouté 100 µl de xanthine oxydase (les dilutions sont effectués au moment de l'essai jusqu'à les blancs donnent  $A = 0.015 - 0.025 / \text{min}$  a 560 nm (entre 30 sec et 2 min après ajout du Xanthine Oxydase)
- ✓ Ajouté de la xanthine oxydase dans chaque échantillon.
- ✓ Lecture d'absorbance a 560 nm dans une cuve en quartz de 1 cm.

**Calcule :**

Le pourcentage d'inhibition de la xanthine oxydase par la SOD est mesuré comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition} = (A_{\text{control}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{control}} \times 100 \%$$

L'activité SOD a 50 % est calculée comme suit :

$$\text{Concentration SOD}_{\text{Echantillon}} (\text{U/mg prot}) = (\% \text{ d'inhibition} \times D) / C \times 50$$

D : Facteur de dilution

C : Quantité de protéines contenus dans l'échantillon en mg

## ***2.4. Réalisation des coupes histologiques***

### **2.4.1. Préparation des Coupes de tissus incorporés à la paraffine**

La préparation des coupes de sections de tissus hépatique et testiculaire incorporés a la paraffine a été effectué selon la méthode de Fischer ([Fisher et al., 2008](#)). et réalisé au niveau du laboratoire d'anapathologie du Centre Anti-Cancer a l'Hopital Ibn-Rochd – CHU d'Annaba.

**Procédure a suivre :**

- ✓ Préparez un bain-marie propre entre 42 ° C et 48 ° C, Ajouter 50 mg de gélatine par litre d'eau a fin d'augmenter l'adhérence de la section au verre.
- ✓ Placez le bloc de tissu sur de la glace ce qui rend la paraffine plus dure et donc plus facile à couper en minces rubans.

- ✓ Montez la cassette de tissu contenant l'échantillon de tissu incorporé dans le support de cassette de tissu dans le microtome.
- ✓ Faites avancer le couteau du microtome à l'aide d'ajustements grossiers jusqu'à 1 mm du bloc.
- ✓ Définissez l'épaisseur de la section. La limite inférieure pour la plupart des tissus inclus en paraffine est d'environ 3  $\mu\text{m}$  d'épaisseur.
- ✓ Découpez pour former une surface lisse puis préparez un ruban de coupes de tissu de l'épaisseur souhaitée.
- ✓ Prenez soigneusement le ruban à la main et faites-le flotter sur le bain-marie.
- ✓ Trempez une lame de microscope propre sous le ménisque du bain-marie. Positionner un ou plusieurs profils du tissu vers l'extrémité de l'étiquette de la lame.
- ✓ Tirez lentement la lame hors de l'eau à un angle de 45 ° pour ramasser la section sur la lame.
- ✓ Laissez la section sécher à l'air libre dans une température ambiante.
- ✓ Placer la lame sur son bord et faire cuire 15 min à 60 ° C pour faire fondre la cire avant de réagir avec des réactifs aqueux.

#### **2.4.2. Technique de coloration Hématoxyline – Eosine :**

La méthode de Lillie ([Lillie et al., 1976](#)), de coloration des coupes histologiques du foie et des testicules a été effectué selon les normes de Aladdin Bio-Chem Technology Co.,LTD. Réalisé au niveau du laboratoire d'anapathologie du Centre Anti-Cancer a l'Hopital Ibn-Rochd – CHU d'Annaba.

**Préparation des solutions :** Les solutions et réactifs nécessaires a la réalisation de la technique de coloration a l'hématoxyline-éosine sont présentés au niveau du tableau 22.

Tableau 22. Solutions utilisées dans la coloration Hématoxyline-Eosine.

<b>Solution</b>	<b>Composant</b>	<b>Quantité</b>
<b>1 % Alcool Acide</b>	Acide hydrochlorique	1 ml
	70 % Ethanol	50 ml
<b>0.2 % Eau ammoniacale</b>	Hydroxyde d'ammonium	2 ml
	Eau distillé	1 L
<b>Carbonate de lithium saturé</b>	Carbonate de lithium	1.54 g
	Eau distillé	100 ml
<b>Solution mère d'éosine</b>	Eosine y	1g
	Eau distillé	100 ml
<b>Solution mère de Phloxine</b>	Phloxine B	1 g
	Eau distillé	100 ml
<b>Solution Eosine-Phloxine</b>	Eosine	100 ml
	Phloxine	10 ml
	95 % Ethanol	780 ml
	Acide acétique glacial	4 ml
<b>Solution Hématoxyline (Hémalun)</b>	Ammonium (Alun)	100 g
	10 % Hématoxyline Alcoolique	50 ml
	Eau distillé	1 L

**Etapas de réalisation :**

- ✓ Déparaffiner les coupes dans 2 changements de xylène, 10 minutes chacun.
- ✓ Réhydrater en 2 changements d'alcool absolu, 5 minutes chacun.
- ✓ Emerger dans 95% d'alcool puis 70% d'alcool, 2 minutes chacun.
- ✓ Lavez brièvement à l'eau distillée.
- ✓ Colorez dans la solution d'hématoxyline pendant 10 minutes.
- ✓ Laver à l'eau courante du robinet pendant 5 minutes.
- ✓ Effectué la différenciation avec de l'alcool acide à 1% pendant 30 secondes.
- ✓ Lavez a l'eau courante du robinet pendant 1 minute.

- ✓ Bleuissement dans de l'eau ammoniacale à 0,2 % ou une solution saturée de carbonate de lithium pendant 30 secondes à 1 minute.
- ✓ Laver à l'eau courante du robinet pendant 5 minutes.
- ✓ Rincer à 95% d'alcool, 10 trempettes.
- ✓ Contre-coloration dans une solution d'éosine-phloxine pendant 30 secondes à 1 minute.
- ✓ Déshydrater avec 95% d'alcool, 2 changements, 5 minutes chacun.
- ✓ Nettoyer en 2 changements de xylène, 5 minutes chacun.
- ✓ Montage avec support à base de xylène.

### ***2.5. Analyse statistique***

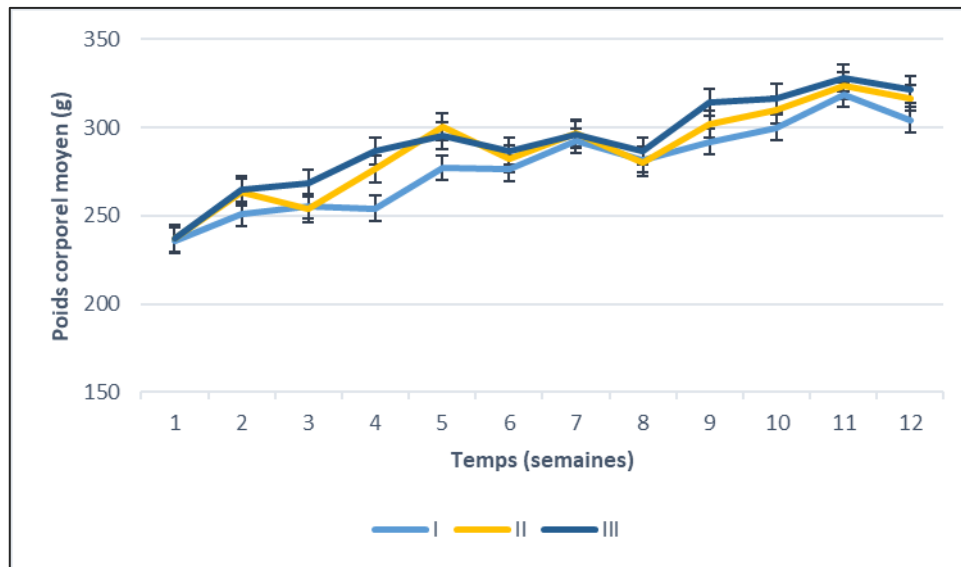
- Tous les résultats ont été analysés statistiquement par le test d'analyse de la variance (One-Way ANOVA) suivit par le test de comparaison multiple (test de Dunnett) où chaque lot été comparé au lot témoin.
- Les valeurs des résultats statistiques sont représentés sous forme de Moyenne  $\pm$  Ecart type ( $M \pm SD$ ).
- Le logiciel GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, USA) a été utilisé pour l'analyse statistique où la valeur de  $P \leq 0,05$  été considérée comme significatif.

*Chapitre – III –*

*RESULTATS EXPERIMENTAUX*

## Chapitre -III- Résultats expérimentaux

### 1. Effet du régime alimentaire expérimental sur l'évolution du poids corporel et du poids des organes



Valeurs exprimées en  $M \pm SD$ .

Figure 12. Effet du régime alimentaire expérimental sur l'évolution du poids corporel des rats.

Sur le graphe présenté ci-dessous, l'évolution du poids corporel des rats des lots traités (lot D et lot N) au cours de l'expérimentation n'a montré aucune différence statistiquement significative en comparant avec le lot témoin (lot T). De même que pour le poids absolu et relatif des organes à savoir le foie, les reins, les testicules et le cerveau, et poumons ; aucun changement n'a été considéré comme statistiquement significatif en comparant les deux groupes de rats traités (lot II et lot III) avec le groupe témoin (lot I).

Table 21. Effet du régime alimentaire contaminé au 1-MCP sur le poids absolu et relatif des organes.

		<b>I (M ± SD)</b>	<b>II (M ± SD)</b>	<b>III (M ± SD)</b>
	<b>Poids du corps (g)</b>	326 ± 24	327 ± 22	331 ± 33
<b>Foie</b>	Poids absolu (g)	11,73 ± 2,16	11,71 ± 1,18	13,26 ± 3,57
	Poids relatif (%)	3,61 ± 0,67	3,56 ± 0,18	3,99 ± 1,01
<b>Reins</b>	Poids absolu (g)	2,07 ± 0,45	2 ± 0,12	2,14 ± 0,36
	Poids relatif (%)	0,64 ± 0,15	0,61 ± 0,06	0,64 ± 0,09
<b>Testicules</b>	Poids absolu (g)	3,55 ± 0,38	3,53 ± 0,50	3,57 ± 0,26
	Poids relatif (%)	1,08 ± 0,08	1,08 ± 0,16	1,08 ± 0,08
<b>Cerveau</b>	Poids absolu (g)	1,48 ± 0,09	1,73 ± 0,25	1,47 ± 0,07
	Poids relatif (%)	0,45 ± 0,06	0,53 ± 0,08	0,45 ± 0,05
<b>Poumons</b>	Poids absolu (g)	2,22 ± 0,41	1,87 ± 0,06	1,97 ± 0,36
	Poids relatif (%)	0,68 ± 0,15	0,57 ± 0,04	0,59 ± 0,09

## 2. Effet du régime alimentaire expérimental sur les paramètres hématologiques

Le tableau suivant représente l'effet du régime alimentaire expérimentale sur la variation des paramètres hématologiques chez les rats. Le nombre de globules blancs a été augmenté chez les deux lots traité cependant cette augmentation n'a été considérée comme significativement (\*  $p \leq 0,05$ ) que chez le lot traité (lot D) en le comparant avec le lot témoin (lot T). De même pour le volume globulaire moyen dont l'augmentation n'a été considéré comme significative (\*  $p \leq 0,05$ ) que chez le lot traité avec la faible dose (lot D) en le comparant avec le lot témoin (lot T). Par ailleurs, on a observé une légère augmentation dans le taux corpusculaire des plaquettes chez les deux lots traités (lot D et lot N) mais qui n'a pas été considéré comme statistiquement significatif.

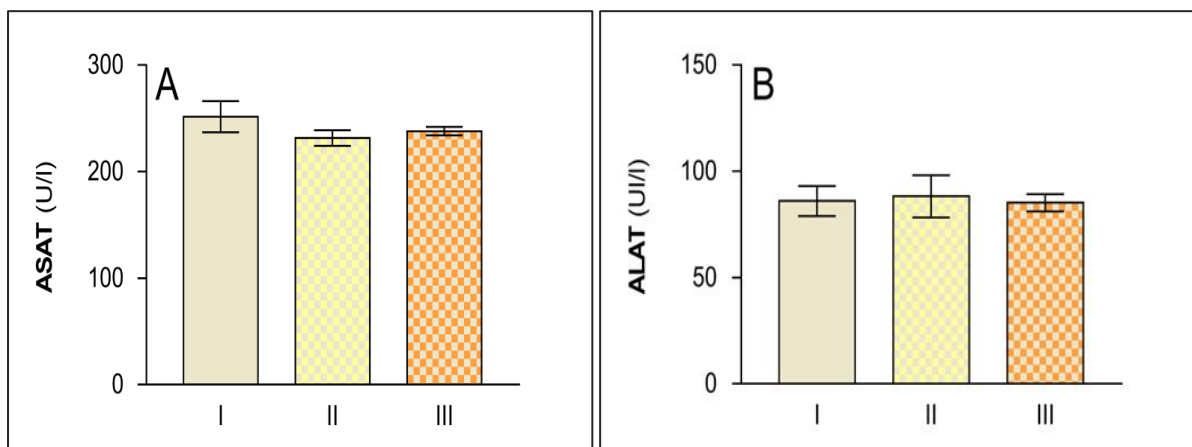
Tableau 22. Effet du régime alimentaire expérimental sur la variation des paramètres hématologiques des rats.

Paramètres	Témoïn (M ± SD)	DL50/1000 (M ± SD)	NOAEL (M ± SD)
GB (x 10 <sup>3</sup> /μL)	<b>5,98 ± 1,00</b>	<b>7,60 ± 0,69 *</b>	<b>6,62 ± 1,13</b>
GR (x 10 <sup>6</sup> /μL)	8,43 ± 0,40	8,39 ± 0,18	8,30 ± 0,24
HGB (g/dL)	15,36 ± 0,48	15,82 ± 0,47	15,60 ± 0,51
HCT (%)	43,42 ± 1,41	44,40 ± 1,30	43,48 ± 1,51
VGM (fL)	<b>51,58 ± 1,27</b>	<b>53,42 ± 0,82 *</b>	<b>52,64 ± 0,56</b>
TMH (pg)	18,18 ± 0,60	18,8 ± 0,37	18,74 ± 0,26
CCMH (g/dL)	35,32 ± 0,38	35,58 ± 0,36	35,82 ± 0,17
PLT (x 10 <sup>3</sup> /μL)	795 ± 38,34	748 ± 68,18	751 ± 50,31
P-LCR (%)	<b>0,51 ± 0,11</b>	<b>0,57 ± 0,15</b>	<b>0,55 ± 0,07</b>

### 3. Effet du régime alimentaire expérimental sur les paramètres biochimiques

#### 3.1. Variation des paramètres de la fonction hépatique

##### 3.1.1. Mesure de l'activité des transaminases

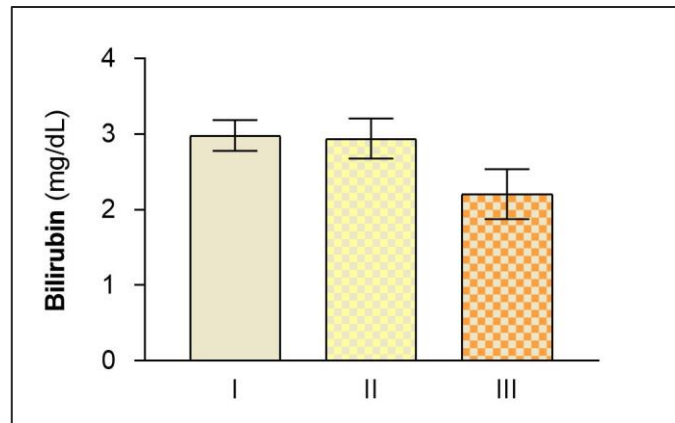


Valeurs exprimées en M ± SD.

Figure 13. Effet du régime alimentaire expérimental sur les variations des activités sériques des transaminases.

La figure ci-dessus représente les variations de l'activité sérique de l'ASAT (A) et de l'ALAT (B) suite a la consommation du régime alimentaire expérimentale. Les deux transaminases ne présentent aucune différence statistiquement significative des deux lots traités (lot II et lot III) en les comparant avec le lot témoin (lot I).

### 3.1.2. Mesure du taux de bilirubine.



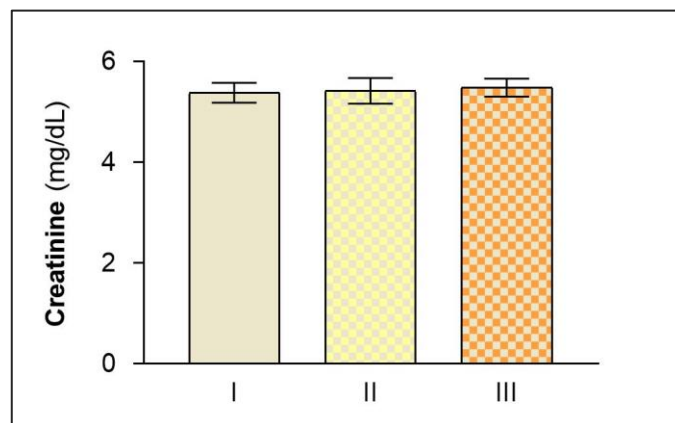
Valeurs exprimées en  $M \pm SD$ .

Figure 14. Effet du régime alimentaire expérimental sur les taux de bilirubine.

La figure ci-dessus ne montre aucune variation significative dans les taux de bilirubine chez les deux lots traités (lot II et lot III) en les comparant avec le lot témoin (lot T).

## 3.2. Variation des paramètres de la fonction rénale

### 3.2.1. Mesure du taux de créatinine

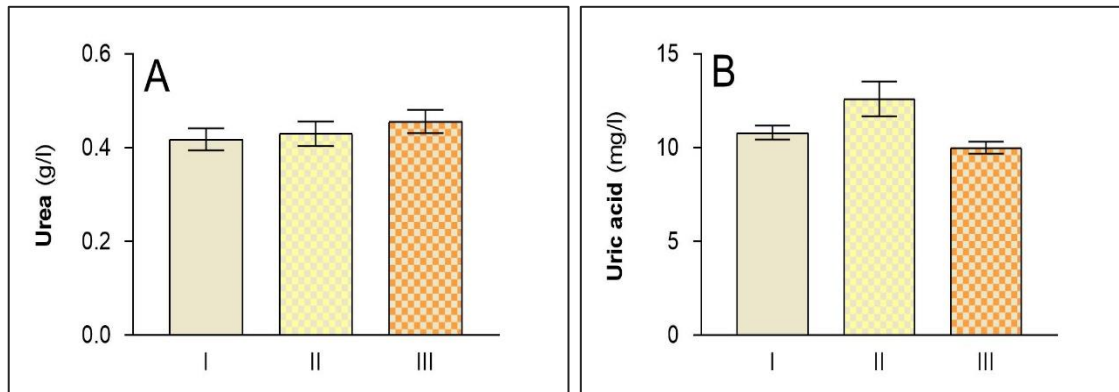


Valeurs exprimées en  $M \pm SD$ .

Figure 15. Effet du régime alimentaire expérimental sur les taux de créatinine.

La figure ci-dessus ne montre aucune variation significative dans les taux de créatinine des deux lots traités (lot II et lot III) en les comparant avec le lot témoin (lot I).

### 3.2.2. Mesure du taux d'urée et d'acide urique

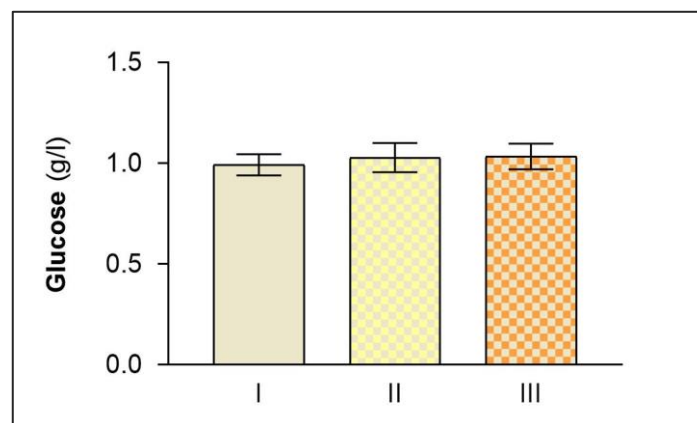


Valeurs exprimées en  $M \pm SD$ .

Figure 16. Effet du régime alimentaire expérimental sur le taux d'urée et d'acide urique.

La figure ci-dessus ne montre aucune variation significative des taux d'urée ni au niveau des taux de l'acide urique chez les deux lots traités (lot II et lot III) en les comparant avec le lot témoin (I).

### 3.3. Variation des paramètres du métabolisme glucidique



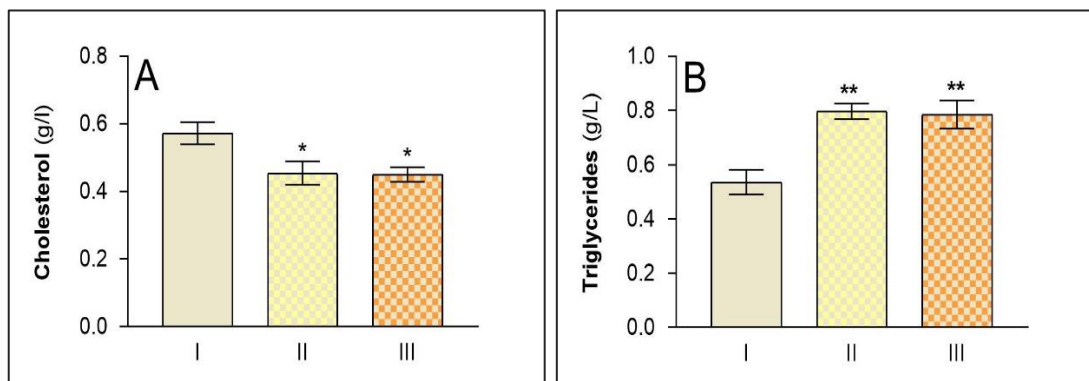
Valeurs exprimées en  $M \pm SD$ .

Figure 17. Effet du régime alimentaire expérimentale sur la glycémie.

La figure ci-dessus ne montre aucune variation significative dans les taux de glucose des deux lots traités (lot II et lot III) en les comparant avec le lot témoin (lot I).

### 3.4. Variation des paramètres du métabolisme lipidique

#### 3.4.1. Mesure des taux de cholestérol et des triglycérides

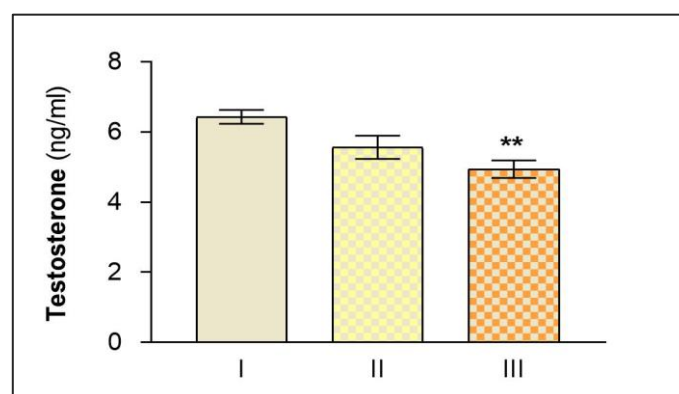


Valeurs exprimées en  $M \pm SD$ .

Figure 18. Effet du régime alimentaire expérimental sur les taux de cholestérol et des triglycérides.

La figure ci-dessus montre une diminution des taux de cholestérol chez les deux lots traités qui été considéré comme statistiquement significative ( $* P \leq 0,05$ ) cependant une augmentation hautement significative ( $** P \leq 0,01$ ) a été enregistrée dans les taux des triglycérides chez les deux lots traités (lot II et lot III) en les comparant avec le lot témoin (lot I).

#### 4. Effet du régime alimentaire expérimental sur le profil hormonal



Valeurs exprimées en  $M \pm SD$ .

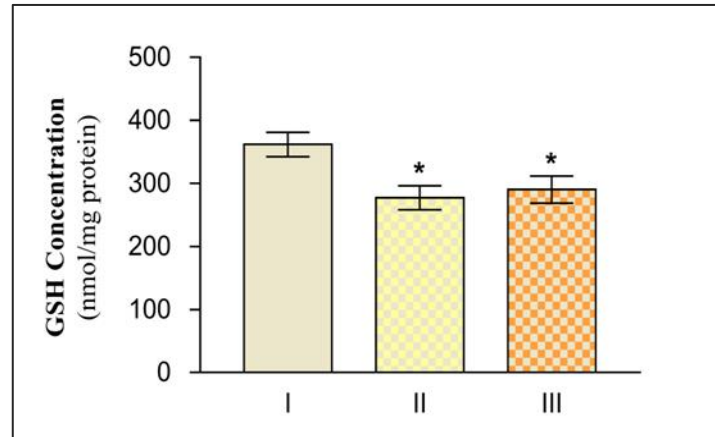
Figure 19. Effet du régime alimentaire expérimental sur les taux de testostérone.

La figure ci-dessus montre une diminution dans les taux de testostérone chez les rats traités (lot II et lot III). Cette diminution a été considérée comme hautement significative ( $** p \leq 0,01$ ) uniquement chez le lot qui avait consommé le régime alimentaire expérimentale contaminé avec la plus forte dose (lot III) en le comparant avec le lot témoin (lot I).

## 5. Effet du régime alimentaire expérimental sur le stress oxydant

### 5.1. Au niveau hépatique

#### 5.1.1. Mesure de la glutathion réduit (GSH).

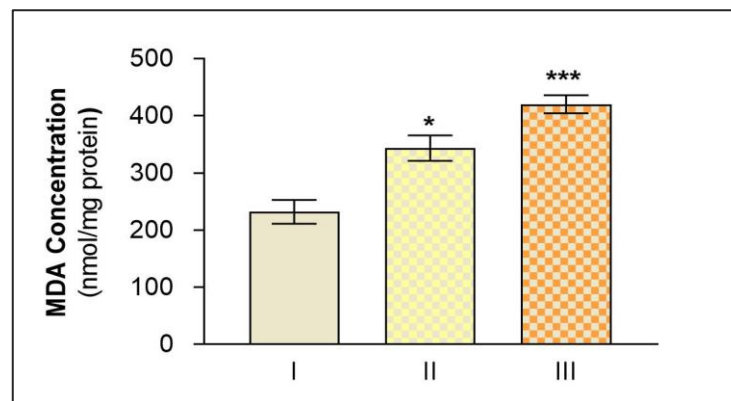


Valeurs exprimées en  $M \pm SD$ .

Figure 20. Effet du régime alimentaire expérimental de la glutathion réduits (GSH) au niveau hépatique.

La figure ci-dessus montre une diminution significative ( $* P \leq 0,05$ ) dans les taux de GSH au niveau hépatique chez les deux lots traités (lot II et lot III) en les comparant avec le lot témoin (lot I).

#### 5.1.2. Mesure de la mano-dialdéhyde (MDA).

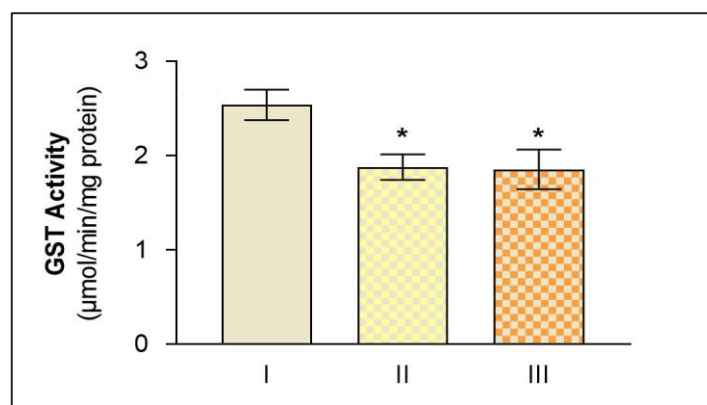


Valeurs exprimées en  $M \pm SD$ .

Figure 21. Effet du régime alimentaire expérimental sur les taux du malo-dialdéhyde (MDA) au niveau hépatique.

La figure ci-dessus montre une augmentation dans les taux d'MDA au niveau hépatique chez les deux lots traités. Cette augmentation a été considérée comme significative ( $* P \leq 0,05$ ) chez le lot ayant consommé le régime alimentaire expérimentale contaminé avec la plus faible dose (lot II) tandis qu'elle a été considérée comme très hautement significative ( $*** P \leq 0,001$ ) chez le lot traité avec la plus forte dose (lot III) en les comparant avec le lot témoin (lot I).

### 5.1.3. Mesure de la glutathion-s-transférase (GST).

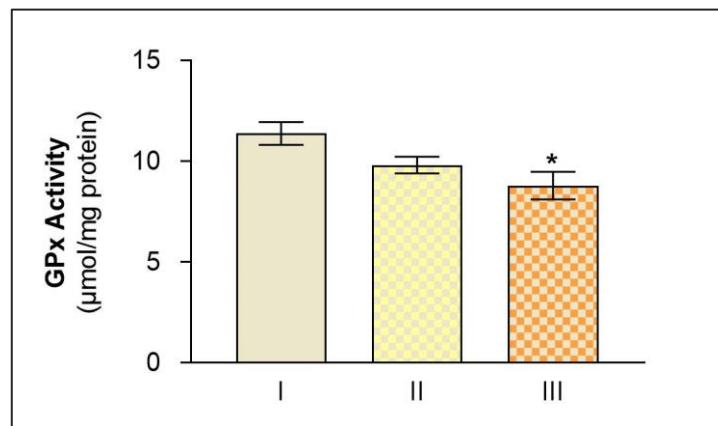


Valeurs exprimées en  $M \pm SD$ .

Figure 22. Effet du régime alimentaire expérimental sur l'activité de la glutathion-s-transférase (GST) au niveau hépatique.

La figure ci-dessus montre une diminution significative ( $* P \leq 0,05$ ) dans l'activité GST du foie chez les deux lots traités (lot II et lot III) en les comparant avec le lot témoin (lot I).

#### 5.1.4. Mesure de la glutathion réduct (GPx).

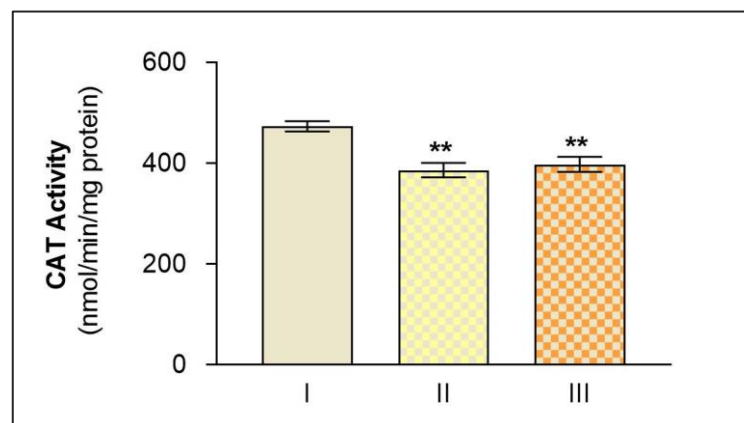


Valeurs exprimées en  $M \pm SD$ .

Figure 23. Effet du régime alimentaire expérimental sur l'activité de la glutathion peroxydase (GPx) au niveau hépatique.

La figure ci-dessus montre une diminution de l'activité GPx au niveau hépatique chez les deux lots traités mais qui n'a été considérée comme significative ( $* P \leq 0,05$ ) que chez le lot de rats ayant consommé le régime alimentaire expérimentale contaminé avec la plus forte dose (lot III).

#### 5.1.5. Mesure de la catalase (CAT).

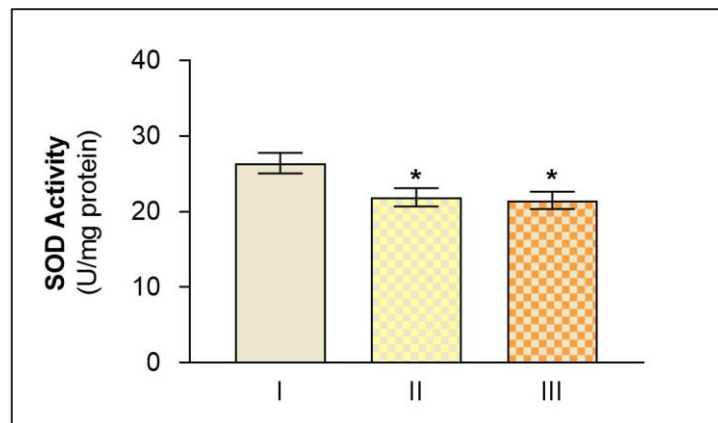


Valeurs exprimées en  $M \pm SD$ .

Figure 24. Effet du régime alimentaire expérimental sur l'activité catalase (CAT) au niveau hépatique.

La figure ci-dessus montre une diminution hautement significative ( $** \leq P 0,01$ ) dans l'activité CAT au niveau hépatique chez les deux lots traités (lot II et lot III) en les comparant avec le lot témoin (lot I).

### 5.1.6. Mesure du superoxyde dismutase (SOD).



Valeurs exprimées en  $M \pm SD$ .

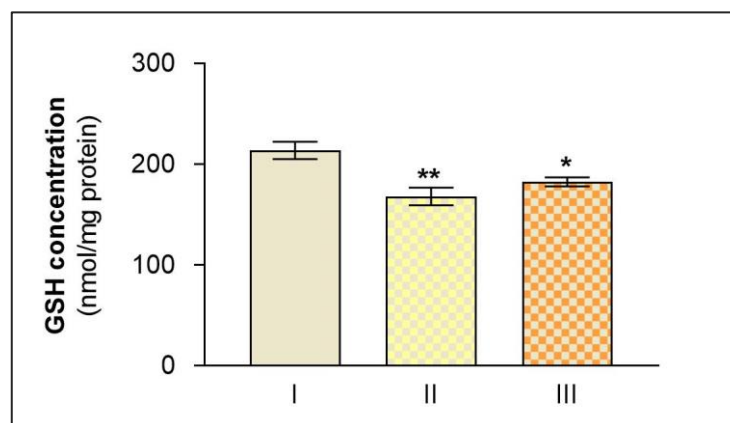
Figure 25. Effet du régime alimentaire expérimental sur l'activité du superoxyde dismutase (SOD) au niveau hépatique.

La figure ci-dessus montre une diminution significative ( $* P \leq 0,05$ ) dans l'activité de SOD hépatique chez les deux lots traités (lot II et lot III) en les comparant avec le lot témoin (lot I).

## 5.2. Au niveau testiculaire

### 5.2.1. Mesure des paramètres du stress oxydant non enzymatique

#### 5.2.1.1. Mesure du taux de la glutathion réduit (GSH)



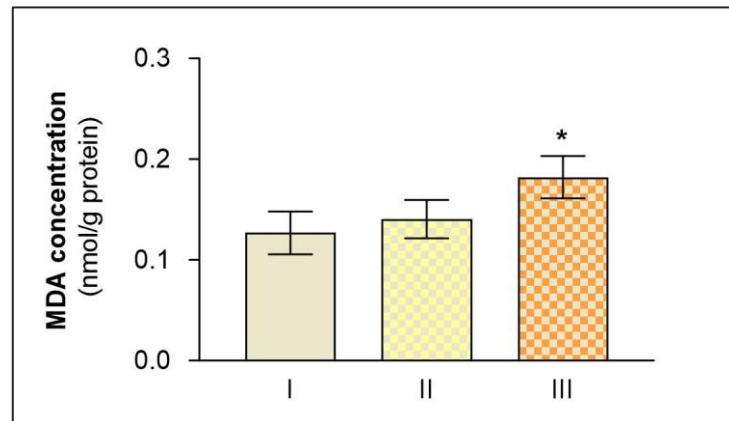
Valeurs exprimées en  $M \pm SD$ .

Figure 26. Effet du régime alimentaire expérimental sur les taux de la glutathion réduit (GSH) au niveau testiculaire.

La figure ci-dessus montre une diminution dans les taux de GSH testiculaire qui a été considérée comme hautement significative ( $** P \leq 0,01$ ) chez le lot traité avec la plus faible

dose (lot II) et uniquement significative (\*  $P \leq 0,05$ ) chez le lot traité avec la plus forte dose (lot III) en les comparant avec le lot témoin (lot I).

### 5.2.1.2. Mesure du taux du malo-dialdéhyde (MDA)



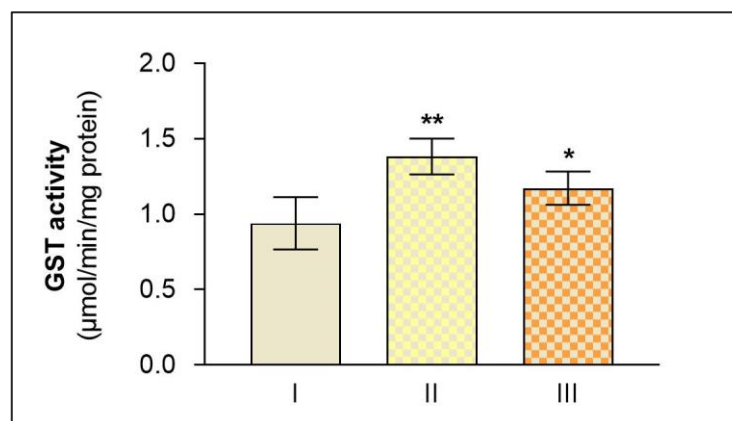
Valeurs exprimées en  $M \pm SD$ .

Figure 27. Effet du régime alimentaire expérimental sur les taux du malo-dialdéhyde (MDA) au niveau testiculaire.

La figure ci-dessus montre une augmentation significative (\*  $P \leq 0,05$ ) dans les taux d'MDA chez le lot traité avec la plus forte dose (lot III) en le comparant avec le lot témoin (lot I).

## 5.2.2. Mesure des paramètres du stress oxydant enzymatique

### 5.2.2.1. Mesure de l'activité de la glutathion-s-transférase (GST)

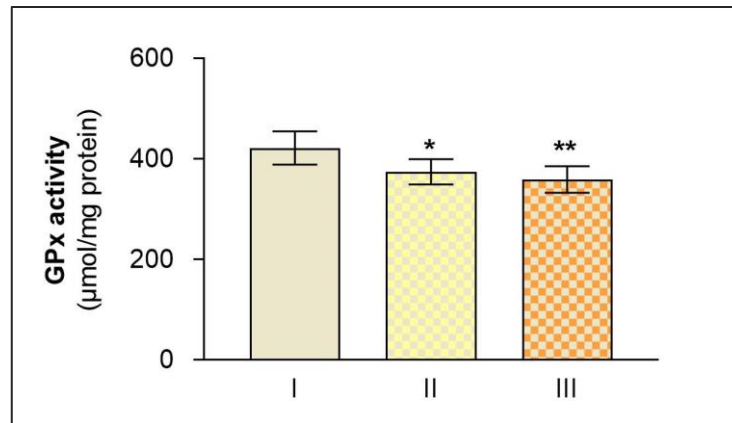


Valeurs exprimées en  $M \pm SD$ .

Figure 28. Effet du régime alimentaire expérimentale sur l'activité de la glutathion-s-transférase (GST) au niveau testiculaire.

La figure ci-dessus montre une augmentation dans l'activité GST testiculaire qui a été considérée comme hautement significative ( $** P \leq 0,01$ ) chez le lot traité avec la plus faible dose (lot II) et comme uniquement significative ( $* P \leq 0,05$ ) chez le lot traité avec la plus forte dose (lot III) en les comparant avec le lot témoin (lot I).

#### 5.2.2.2. Mesure de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx)

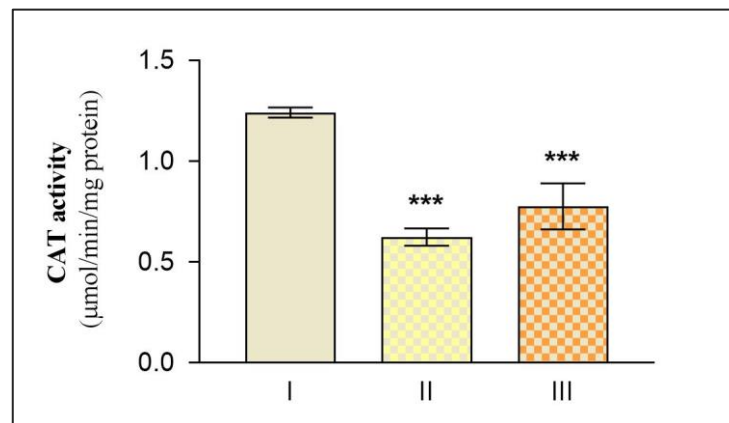


Valeurs exprimées en  $M \pm SD$ .

Figure 29. Effet du régime alimentaire expérimental sur l'activité de la glutathion peroxydase (GPx) au niveau testiculaire.

La figure ci-dessus montre une diminution dans l'activité GPx testiculaire chez les deux lots traités qui a été considérée comme significative ( $* P \leq 0,05$ ) chez le lot traité avec la plus faible dose (lot II) et comme hautement significative ( $** P \leq 0,01$ ) chez le lot traité avec la plus forte dose (lot III) en les comparant avec le lot témoin (lot I).

### 5.2.2.3. Mesure de l'activité de la catalase (CAT)

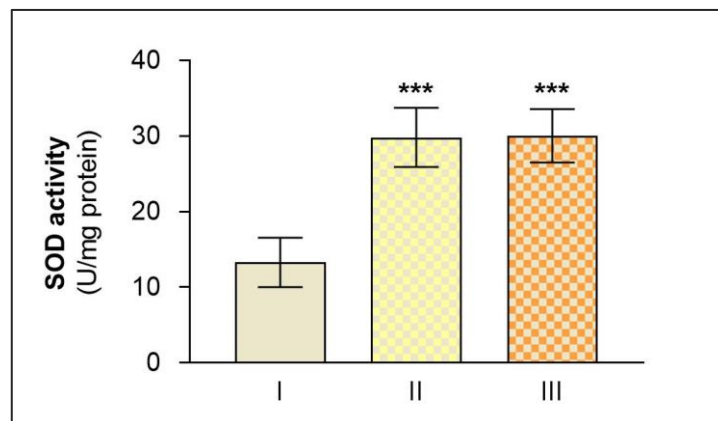


Valeurs exprimées en  $M \pm SD$ .

Figure 30. Effet du régime alimentaire sur l'activité de la catalase (CAT) au niveau testiculaire.

La figure ci-dessus montre une diminution très hautement significative (\*\*\*) dans l'activité CAT testiculaire chez les deux lots traités (lot II et lot III) en les comparant avec le lot témoin (lot I).

### 5.2.2.4. Mesure de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD)



Valeurs exprimées en  $M \pm SD$ .

Figure 31. Effet du régime alimentaire expérimentale sur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) au niveau testiculaire.

La figure ci-dessus montre une augmentation dans l'activité SOD testiculaire qui a été considérée comme très hautement significative (\*\*\*) chez le lot traité avec la plus faible dose (lot II) et comme significative (\*  $P \leq 0,05$ ) chez le lot traité avec la plus forte dose (lot III) en les comparant avec le lot témoin (lot I).

## 6. Effet du régime alimentaire expérimental sur l'histologie

### 6.1. Au niveau hépatique

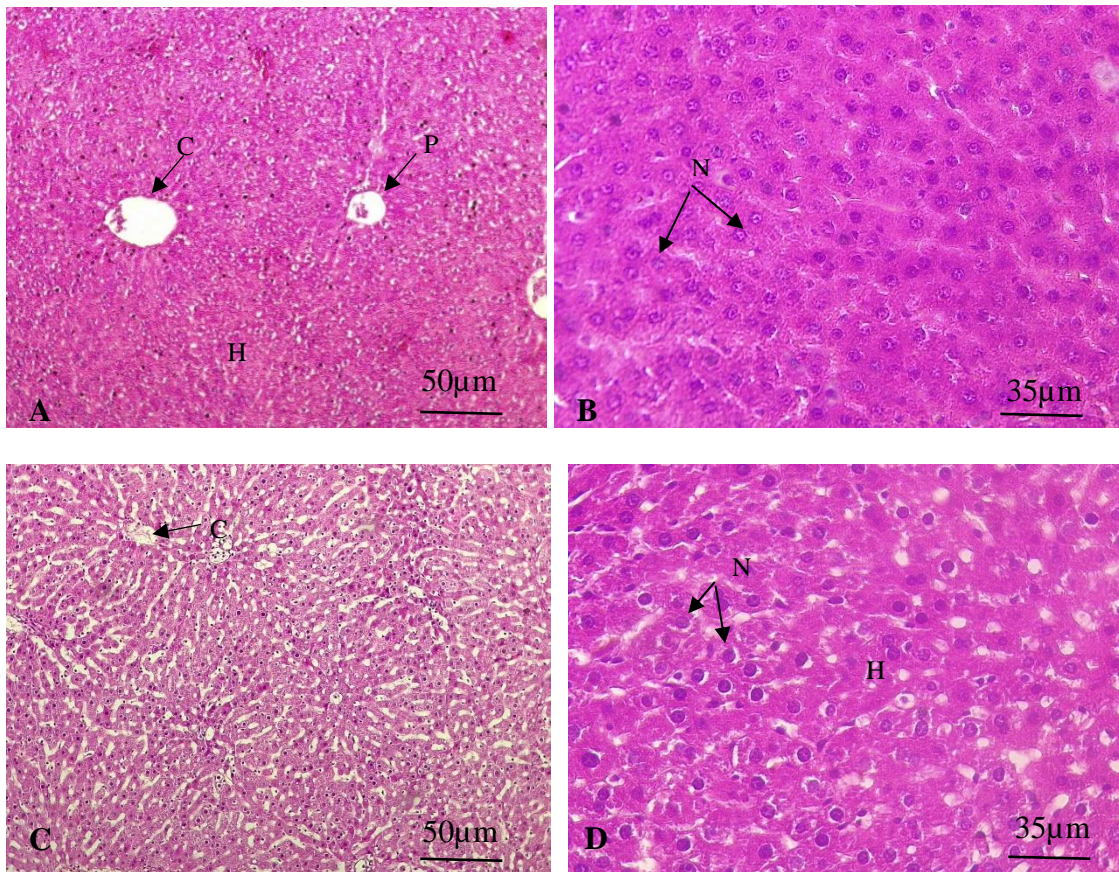


Figure 32. Photomicrographies de sections colorées (H&E) de foies de rats.

La figure ci-dessus représente une photomicrographie d'une section colorée (H&E) de foies de rats ; A et B représentent une coupe de foie de rat nourri avec un régime alimentaire expérimentale non contaminé (lot I) avec un grossissement respectif de 150 et 300. Tous deux montrent des cellules hépatiques normales (Hc) avec des noyaux bien définis, arrondis et centraux (N) ; et un cytoplasme coloré en rose. La veine hépatique centrale (CV) et la veine porte (PV) étaient visibles. C et D représentent une coupe de foie de rat nourri avec un régime alimentaire expérimental contaminé avec la plus forte concentration de 1-MCP (lot III) avec un grossissement respectif de 150 et 300 montrant des cellules hépatiques normales sans changements pathologiques notables.

## 6.2. Au niveau testiculaire

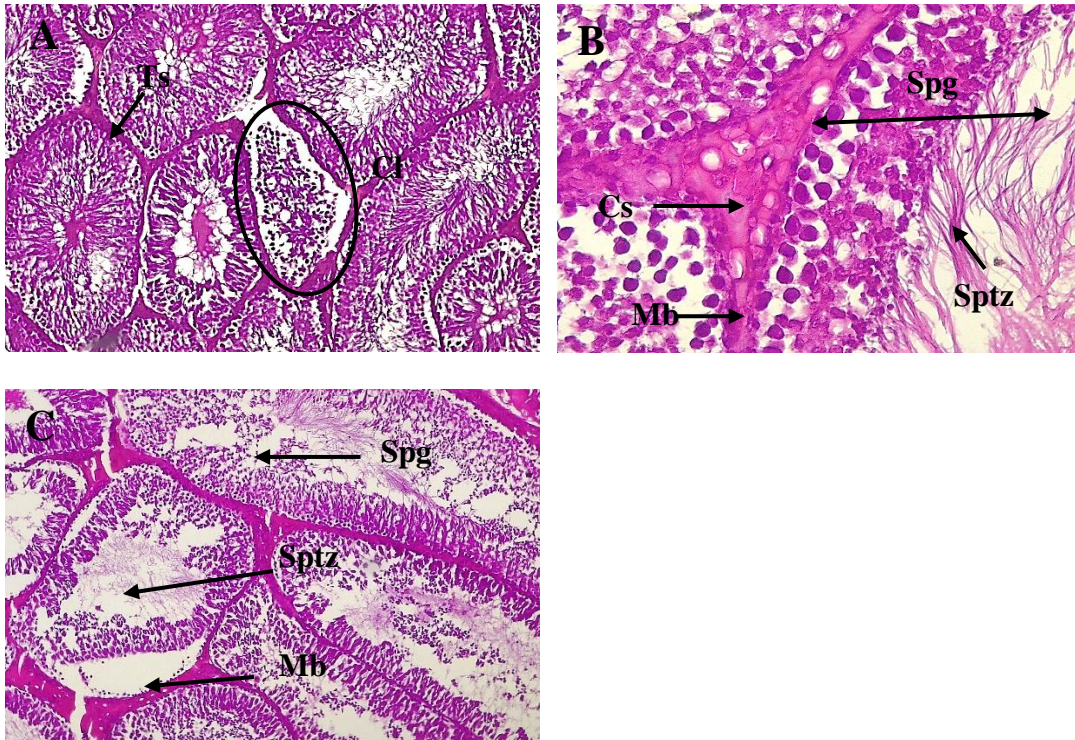


Figure 33. Photomicrographies de sections colorées (H&E) de testicules de rats.

La figure ci-dessus représente une photomicrographie d'une section colorée (H&E) de testicules de rats ; A et B représentent une coupe transversale au niveau de testicules de rat nourri avec un régime alimentaire expérimentale non contaminé (lot I) avec un grossissement respectif de 200 et 400. Tous deux montrent une architecture normale des tubes séminifères (Ts) bien délimités, les cellules sexuelles dont différents stades de spermatogénèse (Spg) sont visibles et les spermatozoïdes (Sptz) semblent fonctionnels et occupent la lumière des tubes. Les cellules de Leydig (Cl) et les cellules de Sertoli (Cs) sont présentes. C représente une coupe transversale de testicules de rat nourri avec un régime alimentaire expérimental contaminé avec la plus forte concentration de 1-MCP (lot III) avec un grossissement 400 montrant une perturbation dans les stades de spermatogénèse, décollement de la membrane basale (Mb) du

tube séminifères, ainsi qu'une diminution de la masse des spermatozoïdes dans la lumière du tube, qui semble être mal distribué.

*Chapitre – V –*

*DISCUSSION*

## Chapitre -V- Discussion

Le 1-méthylcyclopropène est un régulateur de croissance des plantes utilisé pour prolonger la durée de conservation et de stockage des fruits et légumes en inhibant l'hormone responsable du processus naturel de maturation et de sénescence « l'éthylène », ce qui retarde ainsi leur pourrissage, conserve leur qualité nutritive et leur aspect visuel de fruit frais, et ainsi délimite considérablement les pertes post-récolte quantitatives et qualitatives des fruits et légumes ; principalement ceux destinés au marché international et à l'exportation. De plus il est facile d'utilisation et moins coûteux que d'autres techniques de conservation, c'est ce qui a augmenté son usage à travers le monde en aussi peu de temps. Malgré ses multiples avantages en horticulture moderne, des préoccupations ont été soulevées quant aux effets potentiellement toxiques de l'exposition au 1-MCP sur la santé humaine. En effet, le consommateur est exposé au 1-MCP via les résidus déposés sur les tissus externes des végétaux lors du traitement. Par ailleurs, des études antérieures ont démontrés la propriété carcinogène des métabolites du 1-MCP, qui sont des composées moins volatiles et se lie d'avantages aux tissus végétales. De plus, plusieurs fruits et légumes sont traités avec différentes doses du 1-MCP ce qui rend son monitoring encore plus complexe principalement chez les pays en développement tel que les pays africains et tropicales qui sont les plus grands exportateurs de fruits et légumes hors saison. Ces derniers se munissent d'un système de contrôle de résidus et de techniques de manipulation généralement défectueuses. Par ailleurs les RCPs ont déjà exhibé au paravent plusieurs effets neurotoxiques, reprotoxiques, et génotoxiques. Ainsi, nous avons tenté de mimer l'exposition de l'être humain à ce type de pesticide en évaluant l'effet de l'exposition à un régime alimentaire contaminé par le 1-MCP sur la fonction hépatique, le tissu testiculaire, le système antioxydant dans ces deux organes, les paramètres hématopoïétiques, biochimiques,

et métaboliques des rats albinos consommant de façon indirecte le 1-MCP a de très faibles doses pendant une période de 90 jour.

Les globules blancs (GB) jouent un rôle majeur dans le mécanisme de défense chez les animaux. Une augmentation des GB et le niveau élevé des lymphocytes, qui sont un composant des GB, peuvent constituer une défense contre un agent toxique envahissant l'organisme. Dans notre étude, les résultats ont révélé une lymphocytose non dépendante de la dose (Tableau 22), se manifestant par une augmentation du nombre de globules blancs chez les rats traités, considérée comme statistiquement significative uniquement dans le groupe nourri avec le régime contaminé par D1 de 1-MCP (lot II). Nos résultats concordent avec ceux d'Andrew (2018), qui montrent qu'un agent de maturation semblable au 1-MCP ; "le carbure de calcium" a augmenté le nombre de globules blancs chez les rats nourris avec des mangues traitées, et la variation était indépendante de la dose (Andrew et al., 2018). Tudor (2017), d'autre part, a trouvé une diminution significative du nombre de globules blancs chez les rats traités à l'éthéphon, un régulateur de croissance des plantes agissant sur les récepteurs de l'éthylène (Tudor et al., 2017) de manière similaire à la liaison du 1-MCP au récepteur d'éthylène et Abou-zeid (2018) a proposé que la réduction du nombre de globules blancs chez les souris est causée par le stress oxydatif induit par les régulateurs de croissance des plantes dans les organes lymphoïdes tel que la rate et le thymus (Abou-Zeid et al., 2018). Nos données montrent également une légère diminution non significative du nombre de globules rouges (GR) (Tableau 22) chez les rats nourris avec un régime contaminé par le 1-MCP. Ce résultat est en accord avec des recherches récentes montrant que divers RCPs induisent une anémie chez les animaux traités, associée à une diminution du nombre de globules rouges ainsi qu'à une diminution des taux d'hémoglobine et d'hématocrite (Abou-Zeid et al., 2018, Andrew et al., 2018, Mokhtari et al., 2020). Ce qui n'était pas le cas dans notre recherche. Cependant, le VGM, un paramètre indiquant la taille des globules rouges, a montré une augmentation significative

indépendante de la dose chez le rat traité avec la plus faible dose (D1) de 1-MCP (lot II) (tableau 1), indiquant la présence de globules rouges de grande taille. La diminution du nombre de globules rouges peut être attribuée à l'effet toxique du 1-MCP, qui pourrait inhiber l'érythropoïèse ou détruire les érythrocytes de manière similaire à d'autres régulateurs de croissance des plantes (Abdel-Rahman et al., 2023), et le 1-MCP pourrait interférer avec le pool de nutriments des rats, provoquant une carence en vitamine B12 ou en acide folique (Andrew et al., 2018), entraînant éventuellement le développement d'une légère anémie qui est faiblement détectable à ce niveau-là. D'autre part, le traitement au 1-MCP a légèrement réduit le nombre de plaquettes tout en augmentant le P-LCR dans les deux groupes traités, mais la différence n'était toujours pas significative (Tableau 22). L'augmentation du P-LCR est susceptible d'être un mécanisme compensatoire pour le faible nombre de globules rouges dans le sang. Cette constatation est cohérente avec les observations de Tudor en 2017 (Tudor et al., 2017). Dans l'ensemble, le régime contaminé par le 1-MCP a induit une variation de l'hématopoïèse caractérisée par une leucocytose et l'activation du processus inflammatoire en tant que mécanisme de défense contre l'ingestion de xénobiotiques. Les résultats sont également en faveur de l'apparition d'une légère anémie macrocytaire, caractérisée par une diminution du nombre de globules rouges et une augmentation du VGM, et était très probablement causé par une carence en vitamine B12 et/ou en acide folique et non en fer.

Le foie est le principal organe de détoxification qui et le premier a entré en contact avec les agents toxiques et constitue ainsi la première ligne de défense contre les xénobiotiques. D'autres par, il agit comme l'organe métabolique principal de l'organisme en assurant l'équilibre homéostatique. Aujourd'hui ; les lésions hépatiques sont une des principales causes de morbidité et de mortalité dans le monde, causé principalement par l'exposition a des agents chimiques toxiques tel que les intoxications aux pesticides. Les conséquences peuvent être légères et réversibles mais aussi chronique causant des pathologies plus graves ou encore aigues

et fatale entraînant la mort (Ahmed et al., 2023). Dans la présente étude, On a observé une diminution significative ( $P \leq 0,05$ ) dans les taux de cholestérol sérique (Figure 18) chez les deux groupes de rats consommant le régime alimentaire contaminé au 1-MCP (lot II et lot III) en comparant avec le lot témoin (lot I). Par ailleurs on a enregistré une augmentation hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) dans les taux de triglycérides (Figure 18) chez les deux groupes de rats traiter avec le régime alimentaire contaminé au 1-MCP (lot II et lot III) en les comparant avec le lot témoin (lot I). Les concentrations de glucose (Figure 17) n'ont montré aucune différence significative chez tous les groupes confondus. Nos résultats sont comparables avec ceux obtenus par Andrew et al., 2018 qui ont montré une diminution dans les taux de cholestérol dans le sang des rats consommant des mangues traiter avec le calcium carbamide (Andrew et al., 2018). Une autre étude a enregistré une élévation dans les taux de cholestérol et de triglycérides chez les rats traiter avec le GA<sub>3</sub> (Muthu et al., 2011). Cet effet peut être expliquer par le fait qu'un léger dysfonctionnement ou changement dégénérative au niveau du foie causé par les faibles doses d'1-MCP ingéré peut provoquer de tel résultats (Andrew et al., 2018). Une autre hypothèse suggère que les cyclopropènes ont la capacité d'interagir avec les phospholipides des membranes microsomales et plasmiques au niveau hépatique. Cette caractéristique est due à la capacité de leur anneau cyclopropène a s'incorporer dans les membranes lipidiques (Powlowski et al., 1985). En conséquence la formation de certains triglycérides et cholestérol est bloquée ou perturbée. Une étude a d'ailleurs montré que le CCC inhibe la formation du cholestérol partir de l'acétate mais pas de mévalonate (Hou et al., 2020). Ce qui explique les différences dans les résultats obtenus, outre, les triglycérides et le cholestérol sont fabriqué partir de différents types d'acides gras et donc les résultats obtenus ne sont pas précis. En somme le processus exact par lequel les RCPs provoque de tel effets sur les taux de cholestérol et de triglycérides est très controversé et est toujours en exploration. Les résultats sont en faveur d'une perturbation générale du profil lipidique probablement lié au

déséquilibre métabolique déclenché au niveau du foie par le biais du stress oxydant. C'est ce qui est expliqué par les résultats suivants concernant les paramètres biochimiques de la fonction hépatique ainsi que son système antioxydant.

La bilirubine est un pigment biliaire formé à partir de la décomposition de l'hème dans les globules rouges. Un test de bilirubine est utile pour déterminer la cause de la jaunisse. Il aide à diagnostiquer des conditions de santé telles que l'anémie et les maladies du foie. Un taux élevé de bilirubine peut indiquer une maladie. Une augmentation de la bilirubine pourrait probablement résulter de la pression exercée sur les petits canaux biliaires lors d'une intoxication par un produit toxique. Tel est le cas pour l'étude de Andrew 2018. Les taux normaux de bilirubine observés dans cette étude (Figure 14) ne suggèrent aucun trouble hépatobiliaire dans lequel il peut y avoir un blocage partiel ou complet de l'écoulement de la bile à travers les voies biliaires, entraînant une accumulation de bilirubine dans le sang (Andrew et al., 2018). La toxicité provoquée par le 1-MCP n'a pas été aussi prononcée pour provoquer une destruction ou un dysfonctionnement du foie et donc aucun effet secondaire du produit toxique, sur les canaux biliaires et la bile. Ce qui est d'ailleurs prouvé par la suite par l'étude histopathologique. D'autre part ; ASAT et ALAT sont deux enzymes hépatiques essentielles libérées dans le sang suite à la destruction des hépatocytes (Rezg et al. 2008). Certains RCPs ont été prouvés pour interagir avec le tissu hépatique, entraînant des dommages structuraux des hépatocytes et une augmentation des niveaux sériques d'ASAT et d'ALAT, tels que l'ETP (Abou-Zeid et al., 2018, Abdel-Rahman et al., 2023, Tousson et al., 2019), le GA<sub>3</sub> (Troudi et al., 2010) et le 2,4-D (Celik et al., 2006). Cependant, la présente étude n'a identifié aucune distinction statistiquement significative dans les activités des transaminases sériques (Figure 13) chez les rats nourris avec un régime contaminé par le 1-MCP (lot II et lot III) par rapport aux rats nourris avec le régime témoin (lot I). Ces résultats concordent avec l'une des études d'Andrew (2018) montrant qu'un régime expérimental contenant un type d'RCPs n'a pas affecté

les niveaux sériques d'ASAT et d'ALAT (Andrew et al., 2018). Nos résultats indiquent que le traitement au 1-MCP n'a pas causé de dommages structurels observables des hépatocytes. Cela est corroboré par les coupes histologique du foie colorées à l'hématoxyline et à l'éosine (Figure 32), qui ont révélés des cellules hépatiques normales sans changements pathologiques discernables ; de plus, aucune modification du poids du foie ou du corps n'a été enregistrée (Tableau 21 et Figure 12). Ces observations suggèrent que le régime contaminé n'a eu aucun impact significatif sur l'apparence ou la fonction des cellules hépatiques au point d'augmenter les activités sériques d'ASAT et d'ALAT. Cependant, nos résultats ont révélé une augmentation significative ( $P \leq 0,05$ ) des niveaux de MDA chez les rats traités avec le régime contaminé contenant D1 de 1-MCP (lot II), et cette augmentation était beaucoup plus prononcée dans le régime contaminé contenant D2 de 1-MCP (lot III), indiquant une augmentation très hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) (Figure 21). Le MDA est un sous-produit de l'oxydation des acides gras polyinsaturés qui sert d'indicateur des dommages cellulaires et de la peroxydation lipidique (Celik et Tuluçe, 2007). Il est prouvé que l'exposition aux xénobiotiques tend à induire la peroxydation lipidique en produisant excessivement du superoxyde, qui est ensuite transformé en OH réactif, initiant ainsi des réactions en chaîne de peroxydation lipidique par des radicaux libres (Celik et al., 2006). Nos résultats sont en accord avec des études récentes suggérant qu'un régulateur de croissance des plantes bien connu, un agoniste de l'éthylène "éthéphon", a augmenté les niveaux de MDA dans divers tissus de rat, y compris la rate et le thymus (Abou-Zeid et al., 2018), les reins (Mokhtari et al., 2020), et le foie (Abdel-Rahman et al., 2023). Conformément à ces résultats, des niveaux élevés de MDA peuvent indiquer que le foie a subi une peroxydation lipidique, qui peut se produire au niveau cellulaire et moléculaire avant le début de dommages hépatiques visibles, tandis que les niveaux d'ASAT et d'ALAT peuvent ne pas augmenter tant qu'il n'y a pas de destruction significative du foie ou de perte de fonction. Par conséquent, le 1-MCP contenu dans le régime contaminé peut causer des

dommages au foie qui ne sont pas suffisamment graves pour produire des changements histologiques observables dans le tissu hépatique et des changements significatifs dans les niveaux d'ASAT et d'ALAT, mais qui augmentent tout de même les niveaux de MDA, du moins dans les conditions de cette expérience. D'autre part, il convient également de considérer le fait que la consommation de 1-MCP par le biais de l'alimentation pourrait avoir atténué l'effet du 1-MCP sur le foie en raison des antioxydants contenus dans les pommes, notamment les polyphénols et les flavonoïdes, qui ont été démontrés pour protéger contre le stress oxydatif et l'inflammation causés par diverses toxines environnementales et peuvent ainsi contrer les ROS générés par le 1-MCP et diminuer sa toxicité. Cependant, il est bon de savoir que les pommes utilisées dans cette expérience sont sans pesticide, naturelles et biologique, et elles n'ont pas été traitées avec du 1-MCP avant l'expérience, mais le 1-MCP a été ajouté au mélange de pommes. En fait, le profil antioxydant des pommes peut varier en fonction de la manière dont elles sont cultivées et traitées ; les pommes biologiques, cultivées sans l'utilisation de pesticides synthétiques, ont été trouvées pour contenir des niveaux plus élevés d'antioxydants par rapport aux pommes cultivées de manière conventionnelle.

Le système antioxydant protège les cellules du stress oxydatif et des dommages causés par les radicaux libres. Le GSH réduit, et ses enzymes métabolisantes telles que GST, GPx, SOD et CAT, constituent la base de ce système. Il est important dans la neutralisation de substances toxiques telles que les pesticides, les cancérigènes et les mutagènes. L'interaction entre ces enzymes et le GSH réduit est nécessaire pour que le système antioxydant de la cellule fonctionne correctement. Dans l'étude actuelle, le régime contaminé avec différentes doses de 1-MCP a entraîné une diminution significative ( $P \leq 0,05$ ) de la teneur en GSH au niveau du foie dans les deux groupes de rats (lot II et lot III) nourris avec le régime contaminé par le 1-MCP par rapport au groupe témoin (lot I) (Figure 20), indépendamment de la dose administrée. Cette constatation est cohérente avec des recherches antérieures montrant que les régulateurs

de croissance des plantes (RCPs) provoquent une diminution des niveaux de GSH dans plusieurs tissus de rat, tel que le foie, les reins, le cœur, le cerveau, le thymus et la rate, indépendamment de la durée d'exposition et de la concentration utilisée, que le RCPs soit endogène comme le GA<sub>3</sub> (Troudi et al., 2010 ; Abdel-Rahman et al., 2023) ou synthétique comme le 2,4-D, le NAA, le TIBA et l'ETP (Celik et al., 2006, Celik et Tuluçe, 2007, Ozok et Celik, 2012 ; Abou-Zeid et al., 2018, Abdel-Rahman et al., 2023). La diminution de la teneur en GSH réduit chez le rat nourri avec un régime contaminé par le 1-MCP peut être attribuée à son utilisation en tant que substrat par les enzymes antioxydantes pour contrer le stress oxydatif causé par les ROS générés par le traitement au 1-MCP. D'autre part, notre étude a montré une réduction globale de l'activité enzymatique antioxydante du foie, à savoir les activités de GST, GPx, CAT et SOD. L'activité de GST a diminué de manière non statistiquement significative (Figure 22), tandis que la diminution de l'activité de GPx a été jugée statistiquement significative ( $P \leq 0,05$ ) uniquement dans le groupe (lot III) nourri avec le régime contaminé contenant la plus forte dose de 1-MCP (D2) (Figure 23). De plus, l'activité des enzymes CAT et SOD a diminué dans les deux groupes de rats nourris avec un régime contaminé par le 1-MCP (Figure 24 et 25), avec une signification respectivement hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) et significative ( $P \leq 0,05$ ). Nos résultats sont similaires à plusieurs recherches menées sur les RCPs qui ont montré une diminution significative des activités de GPx et CAT induite par le traitement à l'éthéphon dans le thymus et la rate (Abou-Zeid et al., 2018), de SOD et CAT induite par l'éthéphon dans le foie (Abdel-Rahman et al., 2023), d'activités de CAT, SOD, GPx induites par le GA<sub>3</sub> dans le foie (Troudi et al., 2010) et d'activité de GPx induite par le 2,4-D dans les reins (Tayeb et al., 2012). D'autres études ont montré que les traitements oraux de rats avec différentes doses de différents types de RCPs perturbaient les activités des enzymes antioxydantes dans plusieurs tissus de rat (Celik et al., 2006 ; Celik et Tuluçe, 2007 ; Ozok et Celik, 2012), même si des activités élevées de GST, GPx, CAT et SOD témoignent

généralement des réponses protectrices du corps pour éliminer les xénobiotiques et neutraliser les ROS après un processus déclenché par l'exposition aux pesticides. Nos résultats suggèrent que la diminution de l'activité de SOD et CAT dans le foie des rats nourris avec un régime contaminé par le 1-MCP pourrait être attribuée au fait que leur activité est divisée en deux phases pendant le traitement sub-chronique. La première phase implique une augmentation graduelle, représentant une réponse adaptative initiale au stress oxydatif, tandis que la deuxième phase implique une diminution progressive qui se produit lorsque la concentration de radicaux libres dans l'environnement cellulaire dépasse la capacité du système enzymatique antioxydant à les éliminer (Mokhtari et al., 2020). En conséquence les résultats montrent un déséquilibre entre les agents pro-oxydants et antioxydants dans les cellules, qui est à l'origine de l'installation du stress oxydatif dans le foie. D'autre part, les ROS générés par le 1-MCP pourraient avoir inhibé la synthèse des enzymes antioxydantes en raison de la capacité que les RCPs ont à interagir avec le mécanisme de transcription des macromolécules, y compris les protéines et les enzymes, abolissant ainsi la synthèse des enzymes antioxydantes et de leur fonctionnement (Celik et al., 2006). De plus, les radicaux superoxyde et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> générés par les RCPs sont connus pour oxyder les enzymes protéases et diminuer leur activité, cette dernière étant essentielle dans la régulation des enzymes antioxydantes telles que CAT et GPx, et toute altération dans ce métabolisme enzymatique pourrait altérer leur activité à son tour (Celik et Tuluce, 2007). Cette tendance est également observée dans les résultats obtenus de la mesure du système antioxydant au niveau des gonades.

Les androgènes sont les hormones reproductives males dont un des principaux est la testostérone, cette dernière joue un rôle important non seulement dans la fonction reproductive, tel que la différenciation des cellules germinales, le développement et la maturation des organes sexuels, et le maintien de la spermatogenèse, mais elle est aussi impliquée dans plusieurs processus non reproducteurs (Dent et al., 2015 ; Hou et al., 2020). Elle est sécrétée

principalement par les cellules de Leydig au niveau des testicules et est transportée vers les tissus cibles dans le sang où elle exerce ses rôles physiologiques telles que le maintien de la densité osseuse et de la masse musculaire masculine (Dent et al., 2015). Elle agit également sur les tubes séminifères et se lie aux récepteurs des androgènes des cellules de Sertoli afin d'assurer le développement et la différenciation des cellules spermatogéniques (Hou et al., 2020). Dans la présente étude, le régime alimentaire contaminé par le 1-MCP avec les deux doses (D1 et D2) a entraîné une diminution du niveau de testostérone sérique chez les rats traités (Figure 19), cependant, cette diminution n'a été considérée comme hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) que chez les rats ayant ingéré la plus forte dose de 1-MCP (lot II) par rapport au groupe témoin (lot I). Nos résultats concordent avec ceux d'Abd Eldaim et al., 2019, qui ont affirmé que des RCPs tels que l'éthéphon ont diminué les niveaux sériques de toutes les hormones reproductives à savoir l'hormone folliculostimulante (FSH), l'hormone lathérisante (LH), la prolactine et la testostérone chez les rats mâles (Abd Eldaim et al., 2019). De même, d'autres rapports ont indiqué que l'acide gibbérellique de synthèse le  $GA_3$  affectait la fertilité en augmentant la peroxydation lipidique dans les testicules et en diminuant la testostérone sérique (Soliman et al., 2021). Une autre étude exposant des rats mâles à des doses croissantes d'un RCP largement utilisé, le chlorocholine chloride (CCC), par gavage oral dans la période postnatal, a trouvé que le CCC diminuait remarquablement les niveaux sériques de testostérone (Hou et al., 2020). Cette réduction remarquable dans la testostérone pourrait s'expliquer par des dommages sévères que le 1-MCP contenus dans le régime alimentaire consommé par les rats exerce sur les cellules de Leydig et de Sertoli, cellules productrices et cibles de la testostérone, par le biais de la génération de radicaux libres similairement à d'autres RCPs (Abd Eldaim et al., 2019). Ainsi le 1-MCP aurait agi comme est un agent cytotoxique qui a des effets destructeurs sur les cellules de Leydig et de Sertoli en induisant un stress oxydatif dans le tissu testiculaire, ce qui nuit à la libération des hormones sexuelles (Abd Eldaim et al., 2019). Ce

processus de dommages cellulaires est expliqué plus tard avec d'autres résultats présentés par les activités du système antioxydant. Une autre étude a indiqué que les faibles taux de testostérone chez les rats traités avec le CCC ont été issues du blocage de la synthèse de testostérone provoqué par la suppression de l'activité des enzymes stéroïdogènes responsables de sa production. (Hou et al., 2020) de plus la testostérone est synthétisée à partir du cholestérol, dans la présente étude les taux de cholestérol ont été diminués et donc entraînant avec eux la diminution des taux de testostérone.

Il faut également mentionner qu'il a été démontré que certains perturbateurs endocriniens inhibent directement la synthèse des androgènes et suppriment l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadotrope (HPG) chez les rats mâles (Yeşilkaya et al., 2009 ; Hou et al., 2020). Les gonadotoxines affectent directement la production de spermatozoïdes testiculaires, entraînant une densité, une maturation, une motilité ou une morphologie suboptimales des spermatozoïdes en provoquant soit une diminution des gonadotropines sécrétées par l'hypophyse, soit une altération des concentrations de testostérone intratesticulaire (Giwercmanz et al., 2007 ; Yeşilkaya et al., 2009). Des études dans la littérature sur les fonctions reproductrices ont également rapporté que les perturbateurs endocriniens provoquaient l'apoptose, en particulier dans les organes reproducteurs (El-Gohary et al., 1999 ; Boockfor et Blake, 1997 ; Uzumcu et al., 2004). Par exemple en endommageant l'ADN ou en perturbant l'homéostasie du  $Ca^{+2}$  dans les cellules testiculaires (Yeşilkaya et al., 2009).

Nos résultats ont montré une diminution du contenu testiculaire en GSH (Figure 26), considérée comme hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) dans les rats ayant consommé un régime contaminé par du 1-MCP avec D1 (lot II), et significative ( $P \leq 0,05$ ) chez les rats ayant consommé la dose D2 du 1-MCP (lot III) par rapport au groupe témoin (lot I). Le contenu testiculaire en MDA a augmenté dans les deux groupes traités et n'a été considéré comme significatif ( $P \leq 0,05$ ) que dans le groupe traité avec un régime contaminé par du 1-MCP à la

plus forte dose (D2) du 1-MCP (Figure 27). Ces résultats sont similaires à des études très récentes ayant montré une augmentation du contenu en MDA dans des groupes traités avec des doses moyennes et élevées d'éthéphon pendant 35 jours (Jahangirfard et al., 2021). Une autre étude a montré qu'une ingestion de GA<sub>3</sub> pendant 21 jours entraîne une augmentation significative du niveau de MDA dans les tissus testiculaires avec une diminution des niveaux de GSH (Soliman et al., 2021). Cela pourrait être expliqué par le fait que l'augmentation du MDA testiculaire pourrait être due au fait que les RCPs sont corrélés à la création de espèces réactives de l'oxygène, ce qui entraîne de nombreux changements pathophysiologiques et la destruction des éléments cellulaires (Chen et al., 2011). De même, d'autres rapports ont indiqué que le GA<sub>3</sub> augmente la peroxydation lipidique dans les testicules (Soliman et al., 2021). En effet, les taux élevés d'MDA chez les rats consommant le régime alimentaire contaminé avec le 1-MCP suggèrent que le 1-MCP peut générer des ROS comme a été suggéré par Khalaf, 2019 que les régulateurs de croissance des plantes sont associés avec la génération de ROS (Khalaf et al., 2019). Cela est dû au fait que les tissus testiculaires et la membrane plasmique des spermatozoïdes sont riches en acides gras polyinsaturés, ce qui les rend plus sensibles aux dommages causés par les ROS (Abd Eldaim et al., 2019). Le 1-MCP aurait pu entraîner la génération de ROS qui ont été responsables de la destruction cellulaire, principalement au niveau des cellules de Sertoli et cellules de Leydig, en déclenchant la peroxydation lipidique et augmentant ainsi le niveau de MDA testiculaire. Ce qui expliquerait notamment la diminution des taux de testostérone.

Pour les activités des enzymes antioxydantes ; la GST a montré une augmentation hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) dans le groupe de rats ayant consommé un régime contaminé par du 1-MCP avec la plus faible dose (D1) et seulement significative ( $P \leq 0,05$ ) dans le groupe de rats ayant consommé un régime contaminé par du 1-MCP avec la dose la plus élevée (D2) (Figure 28). En revanche, l'activité de la GPx a diminué de manière significative ( $P \leq 0,05$ ) chez les

rats traités avec un régime contaminé par du 1-MCP avec la plus faible dose (D1) et une diminution hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) a été observée chez les rats traités avec un régime contaminé par du 1-MCP avec la dose la plus élevée (D2) (Figure 29). Les activités élevées de la GST témoignent des réponses protectrices du corps pour éliminer les xénobiotiques et neutraliser les ROS après un processus de stress oxydatif suite à une exposition aux pesticides. Une diminution notable de l'activité de la GPx a également été enregistrée dans des études récentes ; induite par le traitement à l'éthéphon dans le thymus et la rate (Abou-Zeid et al., 2018), dans le foie (Abdel-Rahman et al., 2023), et induite par le GA<sub>3</sub> dans le foie (Troudi et al., 2010) et par le 2,4-D dans le rein (Tayeb et al., 2012). D'autre part, nous avons enregistré un déclin très hautement significatif ( $P \leq 0,001$ ) de l'activité de la CAT testiculaire dans les deux groupes de rats ayant consommé un régime contaminé par du 1-MCP (Figure 30) avec les deux doses (lot II et lot III) par rapport au groupe témoin (lot I). En ce qui concerne l'activité de la SOD testiculaire (Figure 31), elle a augmenté de manière très hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) dans les deux groupes de rats (lot II et lot III) ayant consommé un régime contaminé par du 1-MCP avec les deux doses (D1 et D2) par rapport au groupe témoin (lot I). Nos résultats concordent à des études antérieures sur les RCPs les plus utilisés qui ont montré une diminution de l'activité de la CAT dans des groupes traités avec des doses moyennes et élevées d'éthéphon pendant 35 jours (Jahangirfard et al., 2021). Des traitements de 4 semaines chez les rats avec du GA<sub>3</sub> ont augmenté le stress oxydatif dans les testicules du groupe traité au GA<sub>3</sub> ; l'activité des enzymes CAT et SOD a diminué de manière significative par rapport aux témoins (Khalaf et al., 2019). L'ingestion de GA<sub>3</sub> pendant 21 jours a entraîné une réduction substantielle de l'activité à la fois de la CAT et de la SOD testiculaires ainsi de la capacité antioxydante totale (Soliman et al., 2021). Cela pourrait s'expliquer par le fait que les RCPs génèrent des radicaux superoxydes et de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> connus pour oxyder les enzymes protéases et diminuer leurs activités, ces dernières étant essentielles dans la régulation des enzymes antioxydantes telles que la CAT

(comme présenté plus tard dans la discussion) et la GPx, et donc toute altération dans ce métabolisme enzymatique pourrait à son tour altérer leur activité (Celik et Tuluca, 2007). De plus ; comme mentionner auparavant, les spermatozoïdes sont particulièrement exposés aux dommages oxydatifs, car leurs membranes cellulaires sont riches en acides gras polyinsaturés mais aussi car leur cytoplasme contient un petit nombre d'enzymes de lutte contre les radicaux libres (Khalaf et al., 2019) et donc plus sensibles à de très faibles doses de RCPs. Par conséquent, de manière similaire à d'autres RCPs, notamment l'éthéphon, le 1-MCP contenu dans le régime alimentaire contaminé consommé par les rats, aurait pu induire des radicaux libres dans les tissus testiculaires ce qui provoque des dommages spermatogéniques et une diminution des activités des enzymes antioxydantes (Abd Eldaim et al., 2019). En accord avec nos résultats, Celik et Tuluca (2007) ont rapporté qu'une administration subaiguë de GA<sub>3</sub> dans l'eau de boisson affecte les systèmes antioxydants dans divers tissus de rat (Celik et Tuluca, 2007). De plus, dans le groupe traité avec de l'acide gibbérellique, la diminution de la CAT testiculaire, de la SOD sérique et du GSH ainsi que le niveau excessif de MDA témoignent de l'augmentation de la génération de radicaux superoxyde et peroxyde d'hydrogène, et de l'épuisement des enzymes antioxydants (Celik et Tuluca, 2007).

La morphologie est l'une des caractéristiques clés de la fertilité masculine, car elle est l'un des principaux marqueurs de la spermatogenèse testiculaire et de la maturation épидидymaire (Wong et al., 2000). La spermatogenèse est influencée par une combinaison de facteurs endocriniens, génétiques et environnementaux, notamment la nutrition et le mode de vie (Wong et al., 2000 ; Abd Eldaim et al., 2019). Dans la présente étude, dans le groupe témoin (lot I), nous avons observé une architecture normale des tubes séminifères, bien délimités, avec des cellules sexuelles présentant différents stades de spermatogenèse, et des spermatozoïdes fonctionnels occupant la majeure partie de la lumière des tubes séminifères. Les cellules de Leydig et les cellules de Sertoli étaient présentes. Dans le groupe traité avec la plus forte dose

(lot III), nous avons constaté une perturbation dans les stades de spermatogénèse, un décollement de la membrane basale des tubes séminifères, ainsi qu'une diminution de la masse des spermatozoïdes dans la lumière du tube, ces derniers semblant être mal distribués (Figure 33). Nos résultats sont cohérents avec des rapports antérieurs suggérant que les régulateurs de croissance des plantes induisent un arrêt de la spermatogénèse, une dégénérescence testiculaire et une désorganisation des cellules de Leydig et des tubes séminifères associée à une élévation de la peroxydation lipidique et à une surproduction de radicaux libres (Jahangirfard et al., 2021). D'autres études ont prouvé que ROS peuvent causer la destruction des membranes cellulaires et des organites membranaires ainsi que la perturbation des jonctions serrées de la barrière hémato-testiculaire, entraînant une augmentation de la perméabilité (Troudi et al., 2010 ; Chen et al., 2011 ; Khalaf et al., 2019). De plus ; il a été révélé que les régulateurs de croissance des plantes peuvent agir en tant qu'agents reprotoxiques ainsi que des perturbateurs métaboliques et des inhibiteurs de la spermatogénèse dans le tissu testiculaire (Jahangirfard et al., 2021). En générant des ROS qui provoquent à leur tour des altérations dégénératives responsables des changements histopathologiques dans les tissus (Celik et Tuluce, 2007 ; Khalaf et al., 2019). De façon similaire à l'éthéphon, le 1-MCP pourrait avoir eu un effet direct sur la fonction des cellules de Sertoli, impliquées dans le contrôle de la spermiation (le processus par lequel les spermatozoïdes matures sont libérés des cellules de Sertoli dans la lumière du tubule séminifère). Ainsi, sa perturbation conduit à la diminution des taux de testostérone et par conséquent à une désorganisation épithéliale et à une atrophie tubulaire subséquente (Abd Eldaim et al., 2019). Ce qui pourrait expliquer la désorganisation des spermatozoïdes à l'intérieur de la lumière du tube séminifères, diminution de leurs nombres, ainsi que la désorganisation structurale. En effet ; une étude a montré que le CCC pouvait interférer avec le processus de maturation des spermatozoïdes et perturber la spermatogénèse normale en réduisant le taux de testostérone (Hou et al., 2020). De plus ; certains perturbateurs

endocriniens sont connus pour exercer des effets apoptotiques sur les organes par le biais du stress oxydatif en particulier dans les gonades (Yeşilkaya et al., 2009). Un des RCPs ; le 4-CPA a provoqué une apoptose dépendante de la dose dans les tissus ovariens, l'épithélium et le stroma de l'utérus (Yeşilkaya et al., 2009). Et Dans les testicules, l'épididyme, la prostate et les vésicules séminales (Boockfor et Blake, 1997).

Concernant la fonction rénale ; la créatinine, l'urée et l'acide urique sont des tests effectués pour étudier la fonction rénale. La créatinine est un dérivé cyclique formé de la créatine, elle est étroitement filtrée par le rein et n'est pas réabsorbée. Si la filtration du rein est déficiente, les niveaux sanguins de créatinine augmentent. Des niveaux élevés de créatinine indiquent une diminution du débit de filtration glomérulaire et par conséquent, une capacité réduite des reins à éliminer les déchets du corps (Andrew et al., 2018). Dans l'étude actuelle, les niveaux normaux de la créatinine, urée et acide urique (Figure 15 et 16) indique que le rein n'a pas encore été affecté de manière néfaste par l'exposition des rats consommant un régime alimentaire contaminé avec le 1-MCP. Il est à nouveau possible que la consommation prolongée d'un régime alimentaires contaminé avec le 1-MCP puisse entraîner des résultats présentant un niveau de créatinine augmenté, indiquant un dysfonctionnement rénal.

*Chapitre – IV –*

*CONCLUSION*

## Chapitre -IV- Conclusion

Dans cette étude, l'objectif principal était d'évaluer les effets potentiels du 1-méthylcyclopropène, un pesticide émergent, sur une gamme de paramètres biologiques. Notre investigation visait à comprendre l'impact toxique éventuel de ce composé sur les paramètres hématologiques, biochimiques, métaboliques, ainsi que sur le stress oxydatif, et à étudier les altérations histopathologiques au niveau hépatique et testiculaire. Pour reproduire de manière similaire la consommation de résidus de ce produit par le biais de fruits et légumes traités, nous avons élaboré un régime alimentaire expérimental contenant des doses faibles de 1-méthylcyclopropène. Ce régime a été conçu pour imiter le dépôt de résidus de ce composé sur les végétaux. Ces démarches nous ont permis d'explorer les effets potentiels du 1-méthylcyclopropène sur ces paramètres biologiques cruciaux, offrant ainsi des informations précieuses sur les possibles impacts de cette substance émergente sur la santé humaine. Le traitement au 1-MCP a déclenché une réaction immunitaire caractérisée par une lymphocytose, pouvant être liée à une réaction inflammatoire ou à un stress oxydatif au niveau des organes lymphoïdes. Les perturbations observées dans les paramètres hématologiques liées aux globules rouges suggèrent un début probable d'anémie macrocytaire, probablement induit par une diminution des nutriments causée par le 1-MCP, similaire aux autres produits de protection des cultures agissant de manière analogue.

En outre, le 1-MCP a significativement diminué les taux de cholestérol sérique tout en augmentant ceux des triglycérides, résultant de l'interaction chimique intrinsèque du 1-MCP. L'anneau cyclopropène contenu dans le 1-MCP pourrait interférer avec les phospholipides membranaires, entravant la production de cholestérol à partir de certains acides gras, indiquant potentiellement un dysfonctionnement hépatique lié au stress oxydatif. Cependant, bien que des signes de déséquilibre antioxydant-prooxydant aient été enregistrés dans le foie, les

marqueurs traditionnels de dommages hépatiques (ASAT, ALAT, bilirubine) sont restés stables, et les analyses histologiques n'ont révélé aucun changement notable ni altération du poids hépatique. Néanmoins, une augmentation considérable des niveaux de MDA suggère une possible peroxydation lipidique induite par le 1-MCP, même si celle-ci n'a pas atteint un niveau suffisant pour causer une détérioration membranaire significative. Les effets du 1-MCP sur le foie pourraient être attribués à la génération de ROS, perturbant la balance antioxydants/pro-oxydants.

Par ailleurs, le 1-MCP a induit une diminution des taux de testostérone, affectant ainsi les cellules de Sertoli et de Leydig, conduisant à une désorganisation au niveau testiculaire et une diminution du nombre de spermatozoïdes. Ces effets, liés à la génération de ROS, sont exacerbés par la sensibilité des tissus gonadiques aux dommages oxydatifs et leur faible teneur en enzymes antioxydantes comparativement à d'autres tissus. Le 1-MCP induit un stress oxydatif, inhibe la synthèse de testostérone et impacte négativement la fertilité masculine. Nos résultats montrent que le 1-MCP peut agir autant que perturbateur endocrinien et reprotoxique, Ces résultats corroborent notre hypothèse initiale sur le potentiel d'action du 1-MCP, soulignant des inquiétudes quant à la cancérogénicité potentielle de ses métabolites moins volatils, absorbés par les tissus végétaux. Ils appellent à des mesures réglementaires et de protection strictes, surtout pour les travailleurs agricoles exposés, et soulignent le besoin de contrôles plus rigoureux sur l'utilisation des produits phytosanitaires. Par ailleurs, la considération de la source des pommes est un facteur important lors de l'évaluation des risques potentiels de l'exposition au 1-MCP par le biais de l'alimentation sur la santé des consommateurs, que nous avons considéré comme un facteur limitant dans notre étude. Des recherches supplémentaires examinant les effets de la consommation directe de pommes traitées et stockées avec du 1-MCP sont cruciales pour déterminer si le traitement au 1-MCP peut modifier le profil antioxydant des pommes et si cela a un impact sur l'atténuation de l'effet toxique du 1-MCP.

A noter que la présente étude s'est concentrée uniquement sur la consommation indirecte de 1-MCP par le biais de l'alimentation sur le tissu hépatique et testiculaire, alors qu'il pourrait interagir via d'autres mécanismes. Une investigation approfondie des effets du 1-MCP lorsqu'il est ingéré ou inhalé directement, ciblant plusieurs tissus mammifères et comprenant son mode d'action au niveau moléculaire, serait précieuse pour élucider son mécanisme d'action, son processus de métabolisation et son impact lorsqu'il est combiné avec d'autres pesticides. Des études à plus long terme, avec des doses variées, sont également recommandées pour une compréhension approfondie des risques liés à l'utilisation du 1-MCP et pour concevoir des directives de sécurité et des mesures de soins de santé, en particulier pour les travailleurs agricoles en contact direct avec le 1-MCP. De plus, l'utilisation d'agents de maturation et d'anti-maturation naturels et non nocifs devrait être sérieusement encouragée lorsqu'il s'agit des technologies agricoles.

## Chapitre -VI- Références bibliographiques

### « A »

- Abd Eldaim, M. A., Tousson, E., El Sayed, I. E. T., & Awd, W. M. (2019). Ameliorative effects of *Saussurea lappa* root aqueous extract against Ethephon-induced reproductive toxicity in male rats. *Environmental toxicology*, 34(2), 150-159.
- Abdel-Rahman, M. F., El-Azhari, D. B., & Amin, H. M. (2023). The potential protective role of vitamins C against adverse effects of some plant growth regulators in albino rats. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 337-346.
- Abou-Zeid, S. M., Allam, T., El-Bahrawy, A., & Mohamed, A. (2018). Ameliorating effects of green tea on ethephon-induced immunotoxicity and oxidative stress in mice. *Int J Pharm Sci Res*, 4(1), 1-9.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymol*, 105, 121-126. doi:10.1016/s0076-6879(84)05016-3
- Ahmed, A., Ahmed, M., Adam, G. O., Yang, D. K., Tungalag, T., Lee, S. J., ... & Kim, S. J. (2023). Effect of Low-dose Indole-3-Butyric Acid on Hematological and Serum Biochemical Parameters against Thioacetamide-Induced Acute Hepatotoxicity in Rats. *Pakistan Veterinary Journal*, 43(1).
- Andrew, G. S., Simon, U. T., John, A. U., Godwin, O. O., Alexander, N. I., & Ikagu, Y. M. (2018). Studies on changes in some haematological and plasma biochemical parameters in wistar rats fed on diets containing calcium carbide ripened mango fruits. *Int J Food Sci Nutr Eng*, 8(2), 27-36.

### « B »

- Barański, M., Średnicka-Tober, D., Rempelos, L., Hasanaliyeva, G., Gromadzka-Ostrowska, J., Skwarło-Sońta, K., ... & Leifert, C. (2021). Feed composition differences resulting from organic and conventional farming practices affect physiological parameters in Wistar rats—results from a factorial, two-generation dietary intervention trial. *Nutrients*, 13(2), 377.
- Bhadoria, P., Nagar, M., Bharihoke, V., & Bhadoria, A. S. (2018). Ethephon, an organophosphorous, a fruit and vegetable ripener: has potential hepatotoxic effects?. *Journal of family medicine and primary care*, 7(1), 179.

- Bhadoria, P., Nagar, M., Bahrioke, V., & Bhadoria, A. (2015). Effect of ethephon on the liver in albino rats: A histomorphometric study. *Biomedical journal*, 38(5).
- Bhandari, G., Zomer, P., Atreya, K., Mol, H. G., Yang, X., & Geissen, V. (2019). Pesticide residues in Nepalese vegetables and potential health risks. *Environmental research*, 172, 511-521.
- Bisbis, M. B., Gruda, N., & Blanke, M. (2018). Potential impacts of climate change on vegetable production and product quality—A review. *Journal of Cleaner Production*, 170, 1602-1620.
- Boockfor, F. R., & Blake, C. A. (1997). Chronic administration of 4-tert-octylphenol to adult male rats causes shrinkage of the testes and male accessory sex organs, disrupts spermatogenesis, and increases the incidence of sperm deformities. *Biology of reproduction*, 57(2), 267-277.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72, 248-254. doi:10.1006/abio.1976.9999

« C »

- Cannon, R. E., Graves, S., Spalding, J. W., Trempus, C. S., & Tennant, R. W. (2000). Oral administration of dimethylvinyl chloride increases frequency of forestomach papillomas in Tg. AC mice. *Molecular Carcinogenesis: Published in cooperation with the University of Texas MD Anderson Cancer Center*, 29(4), 229-235.
- WHO (World Health Organization) (2023) Carbohydrate intake for adults and children: WHO guideline. Geneva. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Celik, I., Tuluçe, Y., & Isik, I. (2006). Influence of subacute treatment of some plant growth regulators on serum marker enzymes and erythrocyte and tissue antioxidant defense and lipid peroxidation in rats. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 20(4), 174-182.
- Celik, I., & Tuluçe, Y. (2007). Determination of toxicity of subacute treatment of some plant growth regulators on rats. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 22(6), 613-619.
- Chiali, F., Merzouk, H., Merzouk, S., Medjdoub, A., Narce, M. J. P. b., & physiology. (2013). Chronic low level metribuzin exposure induces metabolic alterations in rats. 106(1-2), 38-44.

- COC (2003). Committee on Carcinogenicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment. Statement on Carcinogenic Impurities in the Pesticide 1-Methylcyclopropene (1 MCP).
- Cohen, G., Dembiec, D., & Marcus, J. (1970). Measurement of catalase activity in tissue extracts. *Anal Biochem*, 34, 30-38. doi:10.1016/0003-2697(70)90083-7
- Chen, C., Qian, Y., Chen, Q., Tao, C., Li, C., & Li, Y. (2011). Evaluation of pesticide residues in fruits and vegetables from Xiamen, China. *Food Control*, 22(7), 1114-1120.
- Chen, H., Hao, Z., Wang, Q., Jiang, Y., Pan, R., Wang, C., ... & Lu, C. (2016). Occurrence and risk assessment of organophosphorus pesticide residues in Chinese tea. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 22(1), 28-38.
- CIPAC (2009). 1-Methylcyclopropene Impurities GC method (4667/m). Spring House, Pa. 19477. CBE, P. B.

#### « D »

- Daniels-Lake, B. J., Pruski, K., & Prange, R. K. (2011). Using ethylene gas and chlorpropham potato sprout inhibitors together. *Potato Research*, 54, 223-236.
- de Melo, M. P., De Lima, T. M., Pithon-Curi, T. C., & Curi, R. (2004). The mechanism of indole acetic acid cytotoxicity. *Toxicology letters*, 148(1-2), 103-111.
- Dent, M. P., Carmichael, P. L., Jones, K. C., & Martin, F. L. (2015). Towards a non-animal risk assessment for anti-androgenic effects in humans. *Environment international*, 83, 94-106.
- Diop, A., Diop, Y. M., Thiare, D. D., Cazier, F., Sarr, S. O., Kasprowiak, A., ... & Delattre, F. (2016). Monitoring survey of the use patterns and pesticide residues on vegetables in the Niayes zone, Senegal. *Chemosphere*, 144, 1715-1721.
- Donkor, A., Osei-Fosu, P., Dubey, B., Kingsford-Adaboh, R., Ziwu, C., & Asante, I. (2016). Pesticide residues in fruits and vegetables in Ghana: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 18966-18987.

#### « E »

- EFSA (European Food Safety Authority), Arena, M., Auteri, D., Barmaz, S., Brancato, A., Brocca, D., ... & Villamar-Bouza, L. (2018). Peer review of the pesticide risk

assessment of the active substance 1-methylcyclopropene. EFSA Journal, 16(7), e05308.

- El-Gohary, M., Awara, W. M., Nassar, S., & Hawas, S. (1999). Deltamethrin-induced testicular apoptosis in rats: the protective effect of nitric oxide synthase inhibitor. *Toxicology*, 132(1), 1-8.
- Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, 82(1), 70-77. doi:10.1016/0003-9861(59)90090-6
- El-Sayyad, H. I., Abo Eglia, M. H., Mortada, M. M., Ramadan, M. M., & Elbeeh, M. E. (2012). Evaluation of acute toxicity and teratogenic effects of some plant growth regulators on albino rat embryo. *Journal of Plant Protection and Pathology*, 3(9), 905-919.
- EPA (US EPA Office of Pesticide Programs) (2008) Biopesticides registration action document, 1-methylcyclopropene (PC Code 224459) (Vol. 1, pp. 23).
- Ernst, F., Alonso, B., Colazzo, M., Pareja, L., Cesio, V., Pereira, A., ... & Pérez-Parada, A. (2018). Occurrence of pesticide residues in fish from south American rainfed agroecosystems. *Science of the total environment*, 631, 169-179.

#### « F »

- FAO (2023). FAOSTAT DATABASE License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. Extracted from: <https://www.fao.org/faostat/fr/#data/TCL>. Accessed 06 March 2023.
- Fan, X., Blankenship, S. M., & Mattheis, J. P. (1999). 1-Methylcyclopropene inhibits apple ripening. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 124(6), 690-695.
- Fischer, A. H., Jacobson, K. A., Rose, J., & Zeller, R. J. C. p. (2008). Cutting sections of paraffin-embedded tissues. 2008, pdb. prot4987-pdb. prot4987.

#### « G »

- Giwercmanz, A., Rylander, L., & Giwercman, Y. L. (2007). Influence of endocrine disruptors on human male fertility. *Reproductive biomedicine online*, 15(6), 633-642.

#### « H »

- Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*, 249(22), 7130-7139.

- Hafeman, D. G., Sunde, R. A., & Hoekstra, W. G. (1974). Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat. *J Nutr*, 104(5), 580-587. doi:10.1093/jn/104.5.580
- Hajam, M. A., Hassan, G. I., Parray, E. A., Wani, M. A., Shabir, A., Khan, I. F., ... & Masoodi, L. (2018). Transforming fruit production by plant growth regulators. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(1), 1613-1617.
- Hassan, H. A., Isa, A. M., El-Kholy, W. M., & Nour, S. E. (2013). Testicular disorders induced by plant growth regulators: cellular protection with proanthocyanidins grape seeds extract. *Cytotechnology*, 65, 851-862.
- Henry, R. J., Chiamori, N., Golub, O. J., & Berkman, S. (1960). Revised spectrophotometric methods for the determination of glutamic-oxalacetic transaminase, glutamic-pyruvic transaminase, and lactic acid dehydrogenase. *Am J Clin Pathol*, 34, 381-398. doi:10.1093/ajcp/34.4\_ts.381
- Hjorth, K., Johansen, K., Holen, B., Andersson, A., Christensen, H. B., Siivinen, K., & Toome, M. (2011). Pesticide residues in fruits and vegetables from South America—A Nordic project. *Food Control*, 22(11), 1701-1706.
- Hodjat, M., Baeeri, M., Rezvanfar, M. A., Rahimifard, M., Gholami, M., & Abdollahi, M. (2017). On the mechanism of genotoxicity of ethephon on embryonic fibroblast cells. *Toxicology mechanisms and methods*, 27(3), 173-180.
- Hou, X., Han, M., Dai, X., Yang, X., & Yi, S. (2013). A multi-residue method for the determination of 124 pesticides in rice by modified QuEChERS extraction and gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1198-1205.
- Hou, X., Hu, H., Xiagedeer, B., Wang, P., Kang, C., Zhang, Q. I., ... & Hao, W. (2020). Effects of chlorocholine chloride on pubertal development and reproductive functions in male rats. *Toxicology Letters*, 319, 1-10.

« I »

- Isik, I., & Celik, I. (2015). Investigation of neurotoxic and immunotoxic effects of some plant growth regulators at subacute and subchronic applications on rats. *Toxicology and Industrial Health*, 31(12), 1095-1105.
- Jahangirfard, R., Najafi, G., Shalizar-Jalali, A., Ahmadi, A., & Zadeh-Hashem, E. (2021). Ethephon causes reproductive malfunction in adult male mice: Histological and

biochemical evidence. In *Veterinary Research Forum* (Vol. 12, No. 3, p. 333). Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

- Jallow, M. F., Awadh, D. G., Albaho, M. S., Devi, V. Y., & Ahmad, N. (2017). Monitoring of pesticide residues in commonly used fruits and vegetables in Kuwait. *International journal of environmental research and public health*, 14(8), 833.

#### « K »

- Kappel, F., & MacDonald, R. (2007). Early gibberellic acid sprays increase firmness and fruit size of Sweetheart'sweet cherry. *Journal of the American Pomological Society*, 61(1), 38.
- Kariathi, V., Kassim, N., & Kimanya, M. (2016). Pesticide exposure from fresh tomatoes and its relationship with pesticide application practices in Meru district. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1196808.
- Katagiri, T., Takeuchi, T., Mine, T., Noguchi, T., Nishizawa, T., Yamamoto, S., ... & Matsushima, T. (2000). Chronic inhalation toxicity and carcinogenicity studies of 3-chloro-2-methylpropene in BDF1 mice. *Industrial health*, 38(3), 309-318.
- Khalaf, H. A., Arafat, E. A., & Ghoneim, F. M. (2019). A histological, immunohistochemical and biochemical study of the effects of pomegranate peel extracts on gibberellic acid induced oxidative stress in adult rat testes. *Biotechnic & Histochemistry*, 94(8), 569-582.
- Kocaman, A. Y., & Güven, B. (2016). In vitro genotoxicity assessment of the synthetic plant growth regulator, 1-naphthaleneacetamide. *Cytotechnology*, 68, 947-956.

#### « L »

- Lehmann, E., Turrero, N., Kolia, M., Konaté, Y., & De Alencastro, L. F. (2017). Dietary risk assessment of pesticides from vegetables and drinking water in gardening areas in Burkina Faso. *Science of the Total Environment*, 601, 1208-1216.
- Lillie, R., Pizzolato, P., & Donaldson, P. J. H. (1976). Nuclear stains with soluble metachrome metal mordant dye lakes. 49(1), 23-35.
- Liu, S., Huang, X., He, H., Jin, Q., & Zhu, G. (2016). Evaluation of selected plant growth regulators and fungicide residues in fruits for dietary risk assessment. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 22(6), 1386-1395.

#### « M »

- Marques, J. M. G., & Silva, M. V. D. (2021). Estimation of chronic dietary intake of pesticide residues. *Revista de Saúde Pública*, 55, 36.
- Mokhtari, T., Osman, H. E. H., El-Kenawy, A. E. M., & Dashti, N. (2020). Ameliorative effect of virgin olive oil against nephrotoxicity following sub-chronic administration of ethephon in male rats. *Journal of traditional and complementary medicine*, 10(5), 487-495.
- Muthu, S., Muthuraman, P., Muthuviveganandavel, V., & Srikumar, K. (2011). Acute effect of gibberellic acid on serum enzymes and blood markers in male albino rats. *International Journal of Drug Delivery*, 3(2), 340.

« N »

- National Toxicology Program. (1986a). NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of Dimethylvinyl Chloride (1-Chloro-2-Methylpropene)(CAS No. 513-37-1) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies). National Toxicology Program technical report series, 316, 1-238.
- National Toxicology Program. (1986b). NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of 3-Chloro-2-methylpropene (Technical grade containing 5% dimethylvinyl chloride)(CAS No. 563-47-3) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies). National Toxicology Program technical report series, 300, 1-196.

« O »

- Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 95(2), 351-358. doi:10.1016/0003-2697(79)90738-3
- Ozok, N., & Celik, I. (2012). Effects of subacute and subchronic treatment of synthetic plant growth regulators on liver damage serum biomarkers tissue antioxidant defense systems and lipid peroxidation in rats. *J Drug Metab Toxicol*, 3(124), 2.

« P »

- Park, L., Duncan, H., Briddon, A., Jina, A., Cunnington, A., Saunders, S., & Unit, S. B. (2009). Review and development of the CIPC application process and evaluation of environmental issues. Potato Council Ltd.: Oxford, UK.
- Paul, V., & Pandey, R. (2013). Delaying tomato fruit ripening by using 1-methylcyclopropene (1-MCP) for better postharvest management: current status and prospects in India. *Indian Journal of Plant Physiology*, 18, 195-207.
- Paul, V., & Pandey, R. (2017). 1-Methylcyclopropene (1-MCP) treatments. In *Novel Postharvest Treatments of Fresh Produce* (pp. 149-216). CRC Press.

- Pawlowski, N. E., Hendricks, J. D., Bailey, M. L., Nixon, J. E., & Bailey, G. S. (1985). Structural-bioactivity relationship for tumor promotion by cyclopropenes. *Journal of agricultural and food chemistry*, 33(4), 767-770.

#### « R »

- Renwick, A., Leblanc, J. C., & Setzer, R. W. (2010). Application of the margin of exposure (MoE) approach to substances in food that are genotoxic and carcinogenic—Example: 1-Methylcyclopropene and its impurities (1-chloro-2-methylpropene and 3-chloro-2-methylpropene). *Food and chemical toxicology*, 48, S81-S88.
- Rezg, R., Mornagui, B., El-Fazaa, S., & Gharbi, N. (2008). Biochemical evaluation of hepatic damage in subchronic exposure to malathion in rats: effect on superoxide dismutase and catalase activities using native PAGE. *Comptes Rendus Biologies*, 331(9), 655-662.
- Rouphael, Y., Kyriacou, M. C., Petropoulos, S. A., De Pascale, S., & Colla, G. (2018). Improving vegetable quality in controlled environments. *Scientia Horticulturae*, 234, 275-289.

#### « S »

- Sedlak, J., & Lindsay, R. H. (1968). Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem*, 25(1), 192-205. doi:10.1016/0003-2697(68)90092-4
- Saltveit, M. E. (1999). Effect of ethylene on quality of fresh fruits and vegetables. *Postharvest biology and technology*, 15(3), 279-292.
- Sisler EC, Blankenship SM (1996) U.S. Patent No. 5,518,988. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Sisler, E. C. (2006). The discovery and development of compounds counteracting ethylene at the receptor level. *Biotechnology Advances*, 24(4), 357-367.
- Slavin, J. L., & Lloyd, B. (2012). Health benefits of fruits and vegetables. *Advances in nutrition*, 3(4), 506-516.
- Smith, M.J. and Bucher, G. 2012. Tools to study the degradation and loss of the N-phenyl carbamate chlorpropham—Comprehensive review. *Environment International* 49, 38–50
- Soliman, M. M., Aldhahrani, A., Gaber, A., Alsanie, W. F., Shukry, M., Mohamed, W. A., ... & Mohamed, A. A. (2021). Impacts of n-acetyl cysteine on gibberellic acid-

induced testicular dysfunction through regulation of inflammatory cytokines, steroid and antioxidant activity. *Andrologia*, 53(5), e14036.

- Sørensen, M. T., & Danielsen, V. (2006). Effects of the plant growth regulator, chlormequat, on mammalian fertility. *International journal of andrology*, 29(1), 129-133.
- Spitz, D. R., & Oberley, L. W. (1989). An assay for superoxide dismutase activity in mammalian tissue homogenates. *Anal Biochem*, 179(1), 8-18. doi:10.1016/0003-2697(89)90192-9
- Sutcharitchan, C., Miao, S., Li, W., Liu, J., Zhou, H., Ma, Y., ... & Cui, Y. (2020). High performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for residue determination of 39 plant growth regulators in root and rhizome Chinese herbs. *Food chemistry*, 322, 126766.

#### « T »

- Tayeb, W., Nakbi, A., Trabelsi, M., Miled, A., & Hammami, M. (2012). Biochemical and histological evaluation of kidney damage after sub-acute exposure to 2, 4-dichlorophenoxyacetic herbicide in rats: involvement of oxidative stress. *Toxicology mechanisms and methods*, 22(9), 696-704.
- Tiffany, T. O., Jansen, J. M., Burtis, C. A., Overton, J. B., & Scott, C. D. (1972). Enzymatic kinetic rate and end-point analyses of substrate, by use of a GeMSAEC fast analyzer. *Clin Chem*, 18(8), 829-840.
- Tousson, E., El-Atrsh, A., Mansour, M., & Assem, A. (2019). Histopathological and immunohistochemical studies on the effects of Ethephon on liver and kidney in male rats. *Journal of Medical and Life Science*, 1(4), 104-109.
- Troudi, A., Samet, A. M., & Zeghal, N. (2010). Hepatotoxicity induced by gibberellic acid in adult rats and their progeny. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62(6), 637-642.
- Tudor, M., Cuciureanu, M., Cuciureanu, R., & Slencu, B. G. (2017). Experimental evaluation of the action of ethephon and sodium selenite on some hematological parameters in rats. *The Medical-Surgical Journal*, 121(4), 806-814.

#### « V »

- van Klaveren, J. D., & Boon, P. E. (2009). Probabilistic risk assessment of dietary exposure to single and multiple pesticide residues or contaminants: summary of the

work performed within the SAFE FOODS project. *Food and Chemical Toxicology*, 47(12), 2879-2882.

« U »

- Uzumcu M, Suzuki H, Skinner MK: Effect of the anti-androgenic endocrine disruptor vinclozolin on embryonic testis cord formation and postnatal testis development and function. *Reprod Toxicol* 2004; 18: 765–774.

« W »

- Wang, X., & Hao, W. (2023). Reproductive and developmental toxicity of plant growth regulators in humans and animals. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 105640.
- Watkins, C. B. (2006). The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables. *Biotechnology advances*, 24(4), 389-409.
- Whale, S. K., Singh, Z., Behboudian, M. H., Janes, J., & Dhaliwal, S. S. (2008). Fruit quality in 'Cripp's Pink' apple, especially colour, as affected by preharvest sprays of aminoethoxyvinylglycine and ethephon. *Scientia Horticulturae*, 115(4), 342-351.
- Wong, W. Y., Thomas, C. M., Merkus, J. M., Zielhuis, G. A., & Steegers-Theunissen, R. P. (2000). Male factor subfertility: possible causes and the impact of nutritional factors. *Fertility and sterility*, 73(3), 435-442.

« X »

- Xiong, Liming, and Jian-Kang Zhu. "Regulation of abscisic acid biosynthesis." *Plant physiology* 133.1 (2003): 29-36.

« Y »

- Yeşilkaya, E., Bideci, A., Özer, Ç., Elmas, Ç., Çamurdan, O., Giray, S. G., ... & Cinaz, P. (2009). Plant growth regulator (4-chlorophenoxy acetic acid) increases apoptosis in gonads of rats without changing hormonal levels. *Hormone research*, 72(4), 225-235.

« Z »

- Zhang, J., Ma, Y., Dong, C., Terry, L. A., Watkins, C. B., Yu, Z., & Cheng, Z. M. M. (2020). Meta-analysis of the effects of 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment on climacteric fruit ripening. *Horticulture Research*, 7.