

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



جامعة باجي مختار - عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA



FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE
LABORATOIRE DE BIOCHIMIE ET DE TOXICOLOGIE ENVIRONNEMENTALE

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT
Domaine : Science de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Immunologie

**Étude des effets protecteurs de l'huile d'*Allium sativum*
et de la vitamine C sur la toxicité induite par le
tébuconazole chez le rat wistar**

Présentée par : Mme BERROUAGUE Salma

Directeur de thèse : Mr MESSARAH Mahfoud Prof., Université Badji Mokhtar - Annaba

Membres de Jury:

Président : Mr KECHRID Zine Prof., Université Badji Mokhtar - Annaba

Examineurs : Mr ABDENNOUR Cherif Prof., Université Badji Mokhtar - Annaba

Mme SLIMANI Souheila Prof., Université 20 août 1955 - Skikda

Année universitaire : 2024/2025

REMERCIEMENTS

Remerciements

À l'issue de la rédaction de cette recherche, je suis convaincu que la thèse est loin d'être un travail solitaire. En effet, je n'aurais jamais pu mener à bien ce travail doctoral sans le soutien inestimable d'un grand nombre de personnes. Leur générosité, leur bonne humeur et l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail m'ont été d'un précieux soutien tout au long de cette étape.

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de Biochimie et de toxicologie environnementale (L.B.T.E.) Université Badji Mokhtar- Annaba sous la direction de Monsieur le Professeur **Mahfoud MESSARAH**. Je tiens à le exprimer toute ma reconnaissance et mes sincères remerciements pour son accueil chaleureux et bienveillant au sein du laboratoire, pour sa rigueur scientifique et ses encouragements ainsi que pour la confiance qu'il m'a constamment témoigné.

Je tiens à remercier le Professeur **Mahfoud MESSARAH** pour avoir dirigé cette thèse, pour son encadrement de qualité et sa confiance. Merci pour avoir toujours été disponible à mon écoute et pour m'avoir guidée tout le temps. Merci tout particulièrement pour le soutien scientifique et humain dès le début jusqu'à la fin de ce travail.

Ma profonde gratitude va à Monsieur, Professeur **KECHRID Zine**, à l'université Badji Mokhtar - Annaba, qui a accepté de présider le jury de cette thèse.

Je remercie vivement les membres de jury qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail, Monsieur **ABDENNOUR Cherif**, Professeur à l'université Badji Mokhtar - Annaba, et Madame **SLIMANI Souheila**, Professeur à l'université 20 Août - Skikda.

J'exprime mes sincères remerciements vont à mon enseignante: Madame **MESSARAH BOUMENDJEL Amel**, Professeur à l'université d'Annaba, pour les conseils judicieux qu'il m'a prodigués tout au long de ce travail, et son soutien moral qui m'ont permis de mener à bien cette étude, qu'il trouve ici l'expression de mes plus profonds respects et toutes mes grâces.

Je ne saurais oublier dans mes remerciements ma famille qui m'a soutenu dans mes choix et qui a toujours été présente à chaque fois que cela était nécessaire ; je citerai mes parents, mon frère et mes sœurs et notamment mon mari pour sa sympathie chaleureuse, son appui inestimable et le sourire dans les moments difficiles.

SOMMAIRE

RÉSUMÉ	I
ABSTRACT.....	III
المخلص.....	IV
LISTE DES TABLEAUX.....	V
LISTE DES FIGURES.....	VI
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	VII
INTRODUCTION.....	1

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : LE TÉBUCONAZOLE	3
1. Mode d'action du tébuconazole.....	3
2. Propriétés physico-chimiques.....	4
3. Utilisation	5
4. Toxicité de tébuconazole.....	5
CHAPITRE II : L'<i>ALLIUM SATIVUM</i>.....	7
1. Position systématique.....	7
2. Description	7
3. Origine	9
4. Composition chimique.....	9
5. Principaux effets	11
5.1. Effets cardiovasculaires.....	11
5.2. Effet antimicrobiens.....	11
5.3. Activité anti-inflammatoire.....	11
5.4. Effets antioxydants.....	11
5.5. Effet sur le système immunitaire.....	11
5.6. Effets sur la santé osseuse.....	11
5.7. Effets sur la digestion.....	12
5.8. Effets sur la régulation du glucose sanguin.....	12
5.9. Effets sur la santé cognitive.....	12

CHAPITRE III : LA VITAMINE C.....13

1. Définition et caractéristique.....	13
2. Structure et propriétés chimiques.....	13
3. Métabolisme.....	14
4. Fonctions.....	15
4.1.Activité antioxydante.....	15
4.2.Absorption du fer.....	15
4.3.Soutien immunitaire.....	16
4.4.Régénération de la vitamine E.....	16
4.5.Soutien du système nerveux.....	16
4.6.Protection contre les effets de stress.....	16

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE I : MATÉRIEL ET MÉTHODES.....17

1. Etude phytochimique.....	17
1.1.Matériel végétal.....	17
1.2. Teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins de l'huile d' <i>Allium sativum</i>	17
1.3.Evaluation de l'activité antioxydante.....	17
1.3.1. Etude de l'activité antioxydante (Méthode DPPH).....	17
1.3.2. Capacité antioxydante totale (CAT).....	17
1.3.3. Dosage du pouvoir antioxydant par la méthode TEAC (Test de l'ABTS).....	18
2. Etude biologique.....	18
2.1.Animaux et conditions d'élevage.....	18
2.2.Traitement des rats.....	18
3. Sacrifices des rats et prélèvement des échantillons.....	20
4. Détermination de la formule de numération sanguine (FNS)	20
5. Dosage des paramètres biochimiques.....	20
6. Dosage des paramètres de stress oxydant.....	21
7. Traitement statistique.....	23

CHAPITRE II : RÉSULTATS	24
1. Etude phytochimique.....	24
1.1.Teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins de l'huile d' <i>Allium sativum</i>	24
1.2.Evaluation de l'activité antioxydante.....	24
2. Etude pondérale.....	25
3. Variation des paramètres hématologiques.....	29
3.1.Nombre des globules rouges.....	29
3.2.Nombre des globules blancs.....	29
3.3.Taux d'hématocrite.....	29
3.4.Taux d'hémoglobine.....	29
3.5.Taux des plaquettes.....	29
4. Action sur les biomarqueurs plasmatiques de la fonction hépatique.....	31
4.1.Effet sur l'activité des aminotransaminases.....	31
4.2.Effet sur l'activité de la phosphatase alcaline (PAL).....	31
4.3.Effet sur l'activité de lactate déshydrogénase (LDH).....	31
4.4.Effet sur l'activité des gamma-glutamyl-transpeptidase (GGT).....	31
5. Effet sur la concentration plasmatique en bilirubine totale.....	31
6. Effet sur la concentration plasmatique en glucose.....	31
7. Effet sur la concentration plasmatique en protéines totales et en albumine.....	32
8. Effet sur la concentration plasmatique en cholestérol et en triglycérides.....	32
9. Action sur les biomarqueurs plasmatiques de la fonction rénale.....	34
9.1.Effet sur la concentration plasmatique en urée.....	34
9.2.Effet sur la concentration plasmatique en créatinine.....	34
10. Exploration du profil du stress oxydant.....	35
10.1. Effet sur le taux du malondialdéhyde.....	35
10.2. Effet sur le taux des protéines carbonylées.....	36
10.3. Effet sur le taux des produits protéiques d'oxydation avancée (AOPP).....	37
10.4. Effet sur la teneur en glutathion réduit (GSH).....	38
10.5. Effet sur la teneur en vitamine C.....	39
10.6. Effet sur les activités des enzymes antioxydantes.....	40
10.6.1. Glutathion peroxydase (GPx).....	40
10.6.2. Superoxyde dismutase (SOD).....	41
10.6.3. Catalase (CAT).....	42

10.6.4. Glutathion-S- transférase (GST).....	43
10.7. Effet sur l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE).....	44
10.8. Effet sur le taux de l'oxyde nitrique (NO).....	45
11. Etude histologique.....	46
CHAPITRE III : DISCUSSION.....	49
CONCLUSION	63
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	64
ANNEXES.....	82
PRODUCTION SCIENTIFIQUE	
ARTICLE	
COMMUNICATIONS	

RÉSUMÉ

Ce travail de recherche a pour objectif d'étudier les différents facteurs qui induisent un état de stress oxydant suite à l'exposition au tébuconazole (TEB). Pour faire face aux effets cytotoxiques et oxydatifs de l'agent polluant en question, nous avons essayé de réduire le stress oxydatif induit par ce xénobiotique, par un antioxydant naturel (l'huile d'*Allium sativum* «HAS») ou un antioxydant synthétique (la vitamine C).

Le screening phytochimique de l'huile d'*Allium sativum* a été réalisé par des méthodes standards. Les quantités en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés ont été déterminées par des dosages spectrophotométriques. L'évaluation *in vitro*, du pouvoir antioxydant a été réalisée par différentes méthodes (DPPH, ABTS et CAT).

Les résultats obtenus, après l'administration de TEB à raison de 100 mg/kg PC par voie orale pendant 4 semaines, montrent que ce fongicide entraîne une diminution du poids corporel et des altérations sévères des biomarqueurs hépatiques (transaminases, lactate déshydrogénase, phosphatase alcaline, gamma glutamyl transpeptidase, protéines totales et albumine), rénaux (urée et créatinine), métaboliques (hyperglycémie, hyperlipidémie) et hématologiques. De même, le TEB a provoqué un stress oxydatif objectivé par une augmentation du taux de MDA, des PCO et des AOPP associée à une diminution de la teneur en GSH, en vitamine C, et de l'activité des différentes enzymes antioxydantes (SOD, CAT, GPx et GST) au niveau des organes étudiés. Un effet négatif cérébral (diminution de l'activité de l'enzyme acétylcholinestérase) a été également observé. Sur le plan histologique, la microscopie optique révèle une altération des tissus hépatiques (une congestion de la veine centrolobulaire et une infiltration des cellules inflammatoires) ainsi que du tissu rénal (une dilatation tubulaire et une dégénérescence de glomérule rénale). Cependant, la supplémentation en huile d'*Allium sativum* à 5 ml/kg PC et en vitamine C à raison de 200 mg/kg PC ont significativement amélioré tous les paramètres précédents et ont diminué l'effet indésirable de TEB.

En conclusion, les résultats obtenus confirment que l'HAS et la Vit C diminuent la production des radicaux libres générés par le TEB, améliorent la défense antioxydante, et amoindrissent la sensibilité des tissus au stress oxydatif. Donc on peut considérer que l'atténuation des perturbations enregistrées avec le TEB semble possible par le renforcement des défenses antioxydantes d'organisme, par la supplémentation orientée sur l'HAS et la Vit C à fort potentiel protecteur.

Mots-clés : Stress oxydant, Antioxydant, Tébuconazole, *Allium sativum*, Vitamine C.

ABSTRACT

This research aims to study the various factors that induce oxidative stress following exposure to tebuconazole (TEB). To counteract the cytotoxic and oxidative effects of the pollutant agent in question, we attempted to mitigate the oxidative stress induced by this xenobiotic using a natural antioxidant (*Allium sativum* oil “ASO”) or a synthetic antioxidant (vitamin C).

The phytochemical screening of *Allium sativum* oil was conducted using standard methods. The quantities of total polyphenols, flavonoids, and condensed tannins were determined by spectrophotometric assays. In vitro evaluation of antioxidant capacity was carried out using different methods: DPPH, ABTS, and CAT.

The results obtained after administering TEB at 100 mg/kg body weight orally for 4 weeks showed that TEB led to a decrease in body weight and severe alterations in hepatic biomarkers (transaminases, lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase, gamma-glutamyl transpeptidase, total proteins, and albumin), renal biomarkers (urea and creatinine), metabolic biomarkers (hyperglycemia, hyperlipidemia), and hematological biomarkers. Similarly, TEB induced oxidative stress evidenced by an increase in MDA, PCO, and AOPP levels associated with a decrease in GSH content, vitamin C, and the activity of various antioxidant enzymes (SOD, CAT, GPx, and GST activities) in the studied organs. A negative cerebral effect (decreased acetylcholinesterase enzyme activity) was also observed.

Histologically, optical microscopy revealed alterations in hepatic tissues (centrilobular vein congestion and inflammatory cell infiltration) as well as renal tissue (tubular dilatation and degeneration of renal glomeruli).

However, supplementation with *Allium sativum* oil at 5 ml/kg body weight and vitamin C at 200 mg/kg body weight significantly improved all the previous parameters and reduced the adverse effect of TEB.

In conclusion, the results confirm that *Allium sativum* oil and vitamin C reduced the production of free radicals generated by TEB, improved antioxidant defense, and reduced tissue sensitivity to oxidative stress. Therefore, it can be considered that attenuating the disturbances recorded with TEB seems possible by enhancing the organism's antioxidant defenses through supplementation focused on *Allium sativum* oil and vitamin C with strong protective potential.

Keywords: Oxidative stress, Antioxidant, tebuconazole, *Allium sativum*, Vitamin C.

المخلص

يهدف هذا البحث إلى دراسة العوامل المختلفة التي تسبب الاجهاد التأكسدي بعد التعرض للمبيد الفطري (TEB). لمواجهة تأثيرات التسمم الخلوي والتأكسدي للملوث، حاولنا تخفيف الاجهاد التأكسدي الناتج عن هذا المركبات الخارجية باستخدام مضاد أكسدة طبيعي (زيت *Allium sativum*) أو مضاد أكسدة اصطناعي (فيتامين C)

تم إجراء الفحص النباتي الكيميائي لزيت *Allium sativum* بقياس كمية البوليفينول، الفلافونويد والتانينات المكتفة. اختبارات مضادات الأكسدة في المختبر تمت باستخدام طرق مختلفة (DPPH، ABTS و CAT).

تشير النتائج المتحصل عليها بعد المعالجة بـ TEB عن طريق الفم بجرعة 100 ملغ / كجم لمدة 4 أسابيع إلى أن TEB يؤدي إلى فقدان في الوزن و اضطرابات حادة في نشاط الكبد (الأنزيمات الناقلة للأمين، نازع هيدروجين اللاكتات، الفوسفاتاز الفلوي، البروتينات، والألبومين)، الوظيفة الكلوية (اليوريا والكرياتينين)، الأيضية (الكريات والدهون)، و المؤشرات الدموية. وبالمثل، أدى TEB في ظهور حالة الاجهاد التأكسدي متمثلة في زيادة مستوى كل من MDA، PCO و AOPP مصاحبة بانخفاض في محتوى GSH وفيتامين C، ونشاط مختلف الإنزيمات المضادة للأكسدة (SOD، CAT، GPx، و GST) على مستوى الأعضاء المدروسة. تم ملاحظة تأثير سلبي على الدماغ (انخفاض نشاط إنزيم الأستيل كولين استيراز).

من الناحية النسيجية، تظهر الدراسة المجهرية تغيرات في المؤشرات الكبدية (احتقان الوريد المركزي وانسداد الخلايا الالتهابية) وأيضاً أظهرت تغيرات في الأنسجة الكلوية (توسع الأنابيب الكلوية وضمور الكبيبات الكلوية) والدموية.

ومع ذلك، أدى استعمال زيت *Allium sativum* بجرعة 5 ملل / كجم وفيتامين C بنسبة 200 ملغ / كجم إلى تحسين جميع المعايير السابقة بشكل كبير وتقليل التأثيرات السلبية لـ TEB.

خلاصة، تؤكد النتائج أن زيت *Allium sativum* وفيتامين C يقللان من إنتاج الجذور الحرة التي يولدها TEB، يحسنان الدفاع المضاد للأكسدة مع تقليل شدة الإجهاد التأكسدي للانسجة. لذا، يبدو أن خفض التأثير السلبي لـ TEB ممكن من خلال تعزيز دفاعات الجسم المضادة للأكسدة من خلال استعمال زيت *Allium sativum* وفيتامين C ذو القدرة الوقائية الفعالة.

الكلمات الدالة: الإجهاد التأكسدي، مضادات الأكسدة، TEB، *Allium sativum*، فيتامين C.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Principales caractéristiques physico-chimiques du tébuconazole	4
Tableau 02 : Teneurs en composés phénoliques, en flavonoides, en tanins condensés et activité antioxydante de l'huile d' <i>Allium sativum</i>//.....	24
Tableau 03 : Variation du poids corporel (g) chez les rats témoins et les rats traités.....	26
Tableau 04 : Variation de la consommation d'aliment (g/j/rat) et de l'eau de boisson (ml/j/rat) chez les rats témoins et les rats traités.....	26
Tableau 05 : Variation du poids relatif (g /100g du Poids corporel) des organes prélevés (foie. Reins. Testicules et cerveau) chez les rats témoins et les rats traités.....	28
Tableau 06 : Variation des paramètres hématologiques chez les rats témoins et les rats traités.....	30
Tableau 07 : Variation de quelques paramètres biochimiques de la fonction hépatique chez les rats témoins et les rats traités.....	33
Tableau 08 : Variation du taux plasmatique de l'urée et de la créatinine chez les rats témoins et les rats traités.....	34
Tableau 09 : Variation des taux de la malondialdéhyde (MDA) (nmol/mg de protéine) dans le foie, les reins, les testicules et le cerveau chez les rats témoins et les rats traités.....	35
Tableau 10 : Variation des taux du glutathion réduit (GSH) (nmol/mg de protéine) dans le foie, les reins, les testicules et le cerveau chez les rats témoins et les rats traités.....	38
Tableau 11 : Variation des taux de la vitamine C ($\mu\text{mol/mg}$ de protéine) dans le foie, les reins et les testicules chez les rats témoins et les rats traités.....	39
Tableau 12 : Activités de la glutathion peroxydase (GPx) (nmol GSH/min/mg de protéine) dans le foie, les reins et les testicules chez les rats témoins et les rats traités.....	40
Tableau 13 : Activité du superoxyde dismutase (U/mg de protéines) dans le foie et les reins chez les rats témoins et les rats traités.....	41
Tableau 14 : Activités de la catalase ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min/mg}$ de protéines) dans le foie et les reins chez les rats témoins et traités.....	42
Tableau 15 : Activités de la glutathion-S-transférase (GST) (nmol /min/mg de protéine) dans le foie, les reins, les testicules et le cerveau chez les rats témoins et les rats traités.....	43

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Structure de tébuconazole.....	3
Figure 02 : Schéma général d' <i>Allium sativum</i>	8
Figure 03 : Structure de L'allicine.....	10
Figure 04 : Structure chimique de la vitamine C	14
Figure 05 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	19
Figure 06 : Réaction entre les protéines carbonylées et le DNPH.	21
Figure 07 : Variation des taux des protéines carbonylées (PCO) dans le foie et les reins chez les rats témoins et les rats traités.....	36
Figure 08 : Variation des taux en produits protéiques d'oxydation avancée (AOPP) (dans le foie, les reins, les testicules et le cerveau chez les rats témoins et les rats traités.....	37
Figure 09 : Activités de l'acétylcholinestérase dans le cerveau chez les rats témoins et les rats traités.....	44
Figure 10 : Variation des taux de NO dans le plasma chez les rats témoins et les rats traités.....	45
Figure 11 : Coupes histologiques du foie chez les rats témoins et les rats traités colorées à Hématoxyline-Eosine et observées au microscope optique. Grossissement ×400.....	47
Figure 12 : Coupes histologiques des reins chez les rats témoins et les rats traités colorées à Hématoxyline-Eosine et observées au microscope optique. Grossissement ×400.....	48

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ABTS : Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzo-thiazoline-6-sulfonique)

ACh : Acétylcholine

AChE : Acétylcholinestérase

ALAT : Alanines aminotransférases

AOPP : produits protéiques d'oxydation avancée

ASAT : Aspartate aminotransférase

BSA : Sérum albumine bovine

CAT : Catalase.

CAT : Capacité antioxydante totale

DL50 : Dose létale 50

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

EDTA : Ethylène diamine tétra-acétique

ERO : Espèces Réactif de l'Oxygène

FNS : Formule de Numération Sanguine

GPx : Glutathion peroxydase

GSH : Glutathion réduit.

GST : Glutathion -S-transférase

HAS : Huile d'*Allium sativum*

Hb : Hémoglobine

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

LDH : Lactate déshydrogénase

LPO : Peroxydation lipidique

MDA : Malondialdéhyde

NO : Oxyde nitrique

PAL : Phosphatase alcaline

PC : Poids Corporel

PCO : Protéines carbonylées

SOD : Superoxyde dismutase

TEB : Tebuconazole

Vit C : Vitamine C

INTRODUCTION

INTRODUCTION

De nombreux pesticides couramment utilisés induisent un stress oxydatif en générant un excès d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN). Ces molécules hautement réactives altèrent l'intégrité des biomolécules essentielles (protéines, lipides, ADN). Cette oxydation excessive perturbe le fonctionnement cellulaire normal et épuise les systèmes de défense antioxydante, conduisant à des dommages tissulaires (Usman et al., 2021). Ces perturbations métaboliques induites par le stress oxydant favorisent l'émergence de maladies chroniques telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer et les maladies cardiovasculaires. Chaque classe de pesticides possède des caractéristiques physico-chimiques et toxicologiques propres, déterminées par sa cible et son mode d'action (Kalyabina et al., 2021).

Le tébuconazole (TEB), un fongicide, a la particularité de pénétrer rapidement dans les feuilles des plantes, puis de migrer lentement et régulièrement vers l'intérieur de la plante. Lorsque ce fongicide est largement utilisé dans les zones rurales, il peut entraîner une exposition de l'homme par contact cutané. Il pourrait induire un stress oxydatif dans de nombreux tissus en stimulant la formation d'espèces réactives de l'oxygène (Ben saad et al., 2021).

Pour se protéger des effets néfastes des espèces réactives de l'oxygène, l'organisme a mis en place un système de défense complexe et multifacette. Ce système repose à la fois sur des molécules antioxydantes apportées par l'alimentation (vitamines C, E, acides lipoiques...) et sur des mécanismes enzymatiques endogènes (catalase, superoxyde dismutase...) qui agissent en synergie pour neutraliser les radicaux libres et réparer les dommages cellulaires (Ben saad^b et al., 2017).

Compte tenu des risques pour la santé associés à une exposition prolongée aux pesticides, de nombreuses recherches ont été menées pour identifier les produits naturels capables d'empêcher ces effets. Il a été proposé que la thérapie antioxydante puisse être utile pour la prévention contre la toxicité induite par les pesticides. Un certain nombre de composés naturels possèdent des propriétés protectrices en améliorant les activités antioxydantes (Milosevic et al., 2018 ; Talal et Gathwan, 2022).

Les antioxydants vitaminiques agissent comme un bouclier contre les agressions oxydatives. En captant les radicaux libres avant qu'ils ne réagissent avec les composants cellulaires, ils interrompent les réactions en chaîne qui peuvent conduire à des dommages cellulaires importants. En agissant comme de véritables éponges à radicaux libres, la vitamine

C contribue à prévenir les dommages oxydatifs au niveau des biomolécules, notamment les protéines et les lipides.

Par conséquent, les plantes médicinales sont largement utilisées, en raison de leur efficacité, des effets secondaires limités, et des coûts relativement bas. Il est désormais largement reconnu que le monde végétal constitue une source majeure de médicaments en raison de sa richesse en composés bioactifs (**Fierascu et al., 2021**).

Compte tenu des effets néfastes du tebuconazole et de l'importance des antioxydants dans la protection cellulaire, nous avons choisi d'étudier, dans ce travail, l'effet protecteur de l'huile d'*Allium sativum* et de la vitamine C face au stress oxydatif induit par ce fongicide chez le rat Wistar. Cette étude est articulée sur deux parties.

La première partie, bibliographique, rassemble une synthèse des données actuelles concernant le TEB, l'*Allium sativum* et la Vitamine C.

La seconde partie de cette étude est consacrée à l'évaluation in vitro des propriétés antioxydantes de l'huile d'*Allium sativum*. Nous mesurerons notamment sa teneur en composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes, tanins, capacité antioxydante totale (CAT) et capacité de piégeage du radical ABTS). Parallèlement, nous étudierons in vivo l'effet protecteur de l'HAS et de la vitamine C, sur le stress oxydatif induit par le tebuconazole chez le rat. Les paramètres suivants ont été évalués :

- Paramètres physiologiques : poids corporel, poids relative, consommation d'aliments et d'eau
- Biochimie sanguine : transaminases, PAL, LDH, GGT, urée, créatinine, protéine, albumine, cholestérol et triglycérides
- Hématologie : numération formule sanguine.
- Stress oxydatif : dosage du MDA, des PCO, des AOPP, du GSH et de la vitamine C dans les homogénats, ainsi que des activités enzymatiques SOD, GPx, CAT et GST.
- Histopathologie : étude en microscopie optique des lésions hépatiques et rénales.

En fin, nous avons examiné tous les résultats obtenus dans cette étude de recherche et proposé quelques perspectives.

ÉTUDE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I :
LE TÉBUCONAZOLE

Chapitre I : Le tébuconazole

1. Mode d'action de tébuconazole

Le tébuconazole est un fongicide de la famille des triazoles, largement utilisé dans l'agriculture pour protéger les cultures contre les infections fongiques. Son mode d'action repose sur plusieurs mécanismes (**Figure 01**).

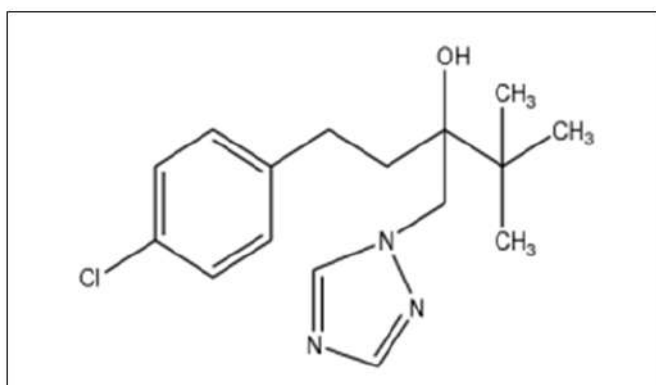


Figure 01 : Structure de tébuconazole (Želonková et al., 2019).

- **Inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol** : En inhibant la 14 α -déméthylase, enzyme essentielle à la synthèse de l'ergostérol, le tébuconazole perturbe profondément la structure et la fonction des membranes cellulaires fongiques. dépourvue de ce stérol, les membranes des champignons se fragilisent, entraînant des dysfonctionnements cellulaires irréversibles et leur mort (Chen et al., 2023).
- **Altération de la perméabilité membranaire** : En plus d'inhiber la biosynthèse de l'ergostérol, le tébuconazole peut également perturber la perméabilité membranaire des champignons. Cette perturbation peut entraîner une fuite d'ions et de molécules essentielles hors de la cellule fongique, perturbant ainsi ses processus vitaux et conduisant à sa mort (Wang et al., 2024).
- **Inhibition de la biosynthèse des stérols fongiques** : Outre l'ergostérol, le tébuconazole peut également perturber la biosynthèse d'autres stérols importants chez les champignons. Par exemple, il peut inhiber la conversion de lanostérol en ergostérol,

réduisant ainsi la disponibilité de stérols fonctionnels nécessaires à la croissance fongique normale (Leite et al., 2024).

Ces mécanismes d'action combinés confèrent au tébuconazole une efficacité contre un large éventail de champignons pathogènes, en faisant un outil précieux dans la protection des cultures contre les maladies fongiques.

2. Propriétés physico-chimiques

Tableau 01 : Principales caractéristiques physico-chimiques du tébuconazole (US EPA, 1999).

Nom chimique	(RS)-1-p-chlorophenyl-4,4-dimethyl-3-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)pentan-3-ol
Formule moléculaire	C ₁₆ H ₂₂ ClN ₃ O
Masse moléculaire (g.mol ⁻¹)	307,80
Apparence	poudre blanche à beige
Densité relative	1,25 g.cm ⁻³ à 26°C
Pression de vapeur	3,9.10 ⁻⁶ à 25°C (95,6% de pureté)
Constante de Henry	1.10 ⁻⁵ Pa.m ³ .mol ⁻¹ à 20°C
Solubilité dans l'eau	29-32 mg.L ⁻¹ à 20°C, pH7
Absorption aux UV (max)	221,4 nm

3. Utilisation

L'utilisation du tébuconazole est répandue dans l'agriculture pour protéger les cultures contre les maladies fongiques :

- **Application foliaire et traitement des semences** : Le tébuconazole est souvent appliqué sur les feuilles des plantes ou utilisé comme traitement des semences pour prévenir les infections fongiques dès le début du cycle de croissance des cultures. Des études ont montré que les traitements foliaires au tébuconazole peuvent réduire significativement l'incidence de maladies telles que la rouille, l'oïdium et les taches foliaires, améliorant ainsi les rendements et la qualité des récoltes (**Gowdar et al., 2024**).
- **Traitement curatif et préventif** : Le tébuconazole peut être utilisé à la fois de manière curative et préventive. Les applications curatives sont souvent nécessaires lorsque des symptômes de maladies fongiques sont déjà visibles sur les cultures. Dans ce cas, le tébuconazole peut aider à réduire la propagation de l'infection et à limiter les dommages causés aux plantes. Les applications préventives sont réalisées avant que les maladies fongiques ne deviennent un problème majeur, offrant une protection anticipée contre les infections (**Queirós et al., 2023**).

4. Toxicité sur les organismes non ciblés

- **Toxicité aiguë** : Les évaluations toxicologiques menées sur des modèles animaux ont révélé une faible toxicité aiguë du tébuconazole par les voies d'exposition orale, cutanée et inhalatoire. Cependant, il est important de noter que des effets indésirables tels que des irritations cutanées et oculaires peuvent survenir lors d'une exposition directe au tébuconazole (**Tofan et al., 2023**).
- **Toxicité chronique et effets sur la santé humaine** : Des études épidémiologiques et toxicologiques ont examiné les effets du tébuconazole sur la santé humaine à long terme. Bien que des expositions chroniques puissent être associées à des effets indésirables tels que des troubles neurologiques, des effets sur la reproduction et des risques accrus de cancer, les preuves disponibles restent limitées et nécessitent des recherches supplémentaires pour évaluer de manière plus approfondie les risques potentiels (**Bernabo et al., 2020**).

- **Impact sur l'environnement** : Des études ont montré que le tébuconazole peut être persistant dans l'environnement et avoir des effets néfastes sur les populations non ciblées, notamment en perturbant les processus physiologiques et en modifiant les communautés biologiques (Tofan et al., 2023).

CHAPITRE II :

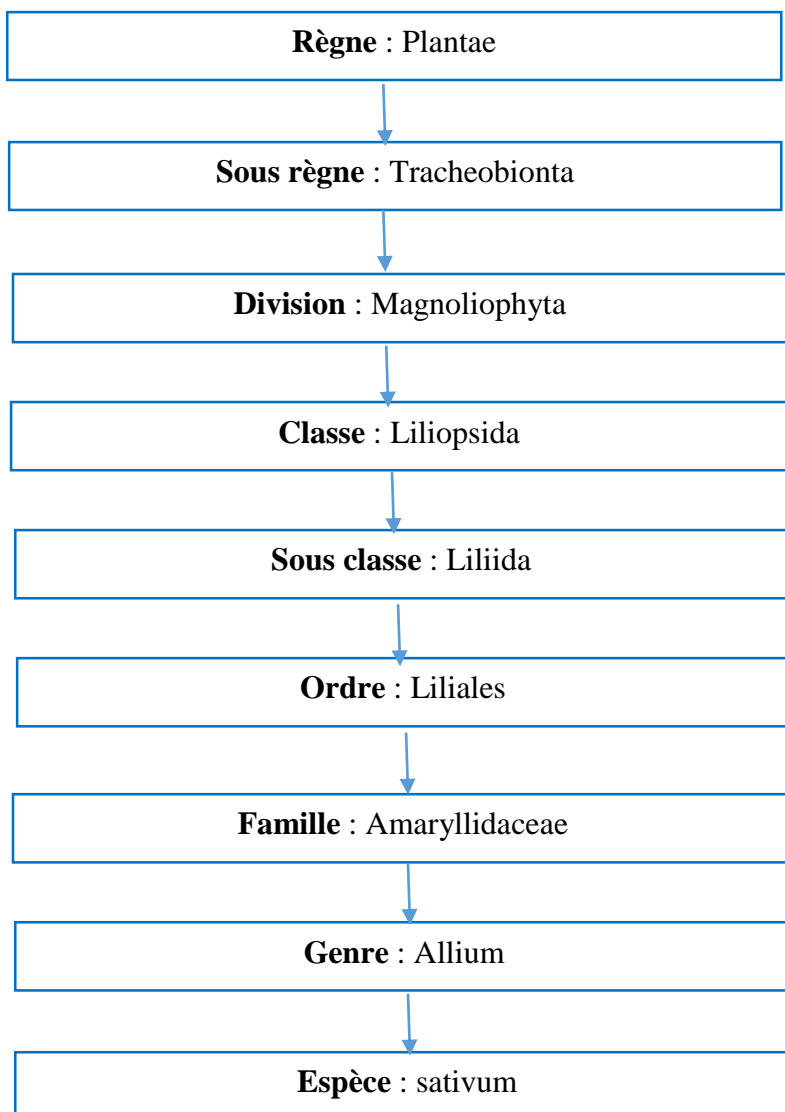
L'ALLIUM SATIVUM

Chapitre II : l'*Allium sativum*

1. Position systématique

Arthur Cronquist (1919 ; 1992) est un botaniste américain, qui propose un système qui fait encore référence aujourd'hui. La classification d'Arthur Cronquist de 1981 est une classification « intuitive » basée sur des critères de ressemblances morphologiques, anatomiques et chimiques et réunit dans des groupes communs les végétaux qui présentent entre eux un nombre plus ou moins élevé de ressemblances profondes (Freire-Fierro, 2008).

D'après le système d'Arthur Cronquist (Classification classique) :



Non scientifique : *Allium sativum* L.

Nom commun : Ail, ail cultivé, ail à tige tendre, thériaque des pauvres.

Nom vernaculaire arabe : ثوم

Parties utilisés : Bulbes.

2. Description

L'*Allium sativum*, plus communément connu sous le nom d'ail, est une plante bulbeuse appartenant à la famille des Amaryllidaceae. Il est largement cultivé et consommé à des fins culinaires et médicinales à travers le monde.

Du point de vue botanique, l'ail est une plante herbacée vivace qui pousse à partir d'un bulbe composé de plusieurs caïeux enveloppés dans des tuniques. Les feuilles sont longues et plates, poussant à partir de la base de la plante. Les fleurs, produites sur une tige florale solide, sont regroupées en une inflorescence sphérique appelée ombelle (Settimi, 2010 ; Touil et al., 2015).

L'ail est réputé pour son goût distinct et son arôme puissant, qui proviennent des composés sulfurés volatils qu'il contient. Ces composés, tels que l'allicine, sont également responsables de ses propriétés médicinales. L'ail est utilisé depuis des millénaires dans diverses traditions médicales pour ses effets antibactériens, antifongiques, antiviraux et antioxydants (El-Saber Batiha et al., 2020).

En plus de ses utilisations culinaires et médicinales, l'ail est également utilisé dans l'industrie cosmétique et comme répulsif naturel contre les parasites dans l'agriculture.

L'ail présente une grande diversité génétique, ce qui a conduit à la sélection de nombreuses variétés adaptées à différents climats et conditions de croissance. Sa culture nécessite un sol bien drainé et une exposition ensoleillée, et il est généralement propagé par division des bulbes ou par semis (Goetz et Ghedira, 2012).

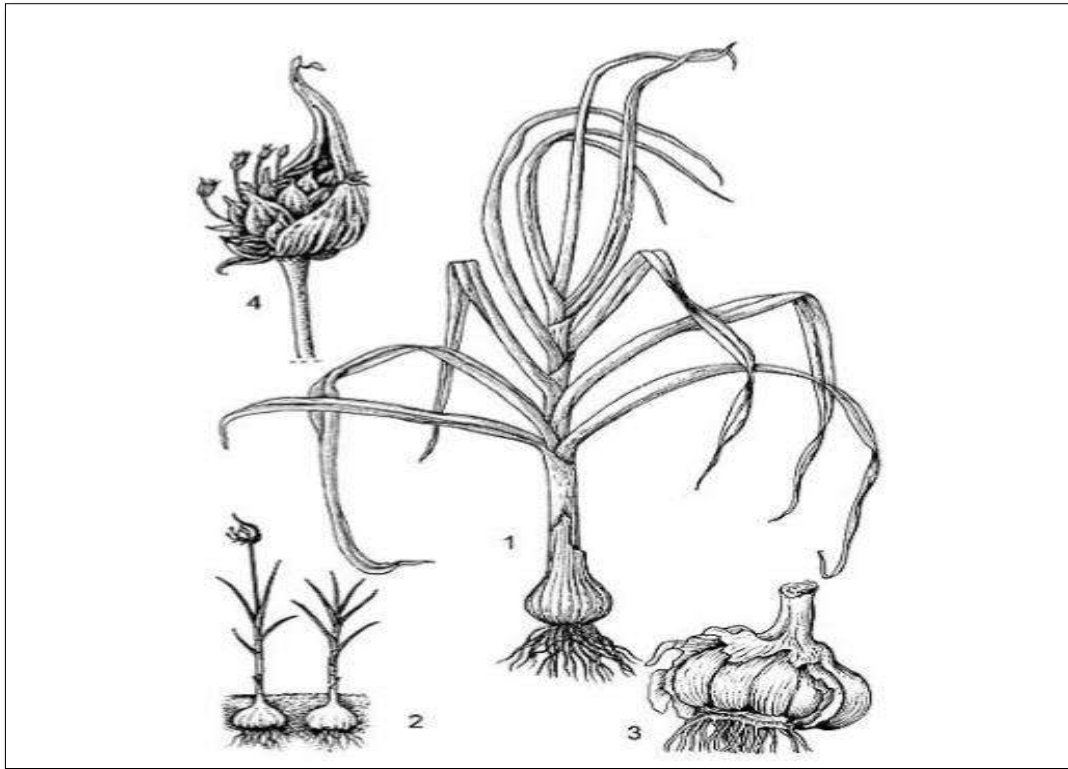


Figure 02 : Schéma général d'*Allium sativum* (1,2 : Port de la plante, 3 : bulbe, 4 : inflorescence) (Prota, 2018).

3. Origine

L'origine de l'*Allium sativum*, remonte à plusieurs millénaires. Cette plante bulbeuse est originaire d'Asie centrale, où elle pousse à l'état sauvage depuis des temps immémoriaux (Arunagiri et al., 2024). Des preuves archéologiques suggèrent que l'ail était déjà cultivé en Égypte il y a plus de 5000 ans, où il occupait une place importante dans la culture et la médecine de l'époque (Dhall et al., 2023).

Selon des études génétiques et phylogénétiques, l'*Allium sativum* aurait une origine ancestrale complexe, résultant de l'hybridation entre différentes espèces d'ail sauvage (*Allium longicauspis* et *Allium pskemense*) dans la région de l'Asie centrale (Friesen, 2022).

L'ail a rapidement été propagé à travers le monde grâce aux échanges commerciaux et aux migrations humaines. Les anciennes civilisations méditerranéennes, telles que les Grecs et les Romains, ont adopté l'ail dans leur cuisine et leur médecine, contribuant ainsi à sa dispersion en Europe. De là, sa culture s'est répandue dans d'autres parties du monde, notamment en Asie, en Afrique et dans les Amériques (Zafar et al., 2023).

L'ail a joué un rôle important dans de nombreuses cultures à travers l'histoire. Il était vénéré par les anciens Égyptiens, qui le considéraient comme une plante sacrée dotée de pouvoirs curatifs et protecteurs. Les soldats romains en consommaient régulièrement pour améliorer leur endurance et leur santé. Dans la tradition chinoise, l'ail était utilisé à des fins médicinales depuis des siècles pour traiter diverses affections (Khouader, 2013).

Aujourd'hui, l'ail est largement cultivé dans de nombreuses régions du monde, avec une production majeure en Chine, suivie par l'Inde et la Corée. Il reste une plante précieuse pour ses utilisations culinaires, médicinales et industrielles, tout en conservant une richesse historique et culturelle profonde.

4. Composition chimique

La composition chimique de l'*Allium sativum*, est remarquablement complexe et diversifiée, ce qui lui confère ses propriétés médicinales et culinaires uniques :

- **Composés sulfurés** : L'ail est particulièrement riche en composés sulfurés, qui sont responsables de son arôme distinctif et de ses effets sur la santé. L'allicine est l'un des composés sulfurés les plus étudiés de l'ail, reconnu pour ses propriétés antibactériennes

et antifongiques. D'autres composés sulfurés présents dans l'ail comprennent les sulfures d'allyle, les thiosulfonates et les polysulfures (Jikah et Edo, 2024).

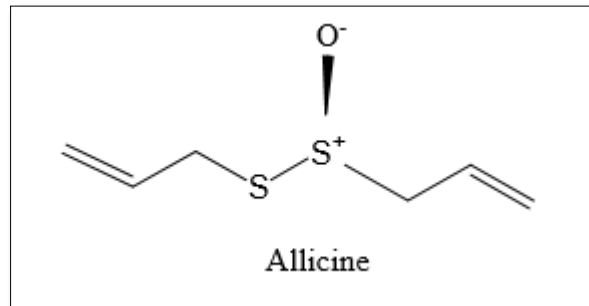


Figure 03 : Structure de L'allicine

- **Antioxydants** : Grâce à sa richesse en flavonoïdes, en composés phénoliques et en vitamines C et E, l'ail est doté de puissantes propriétés antioxydantes, essentielles pour lutter contre les dommages cellulaires causés par les radicaux libres (Čeryová et al., 2021).
- **Composés organosulfurés** : Outre l'allicine, l'ail renferme d'autres composés organosulfurés, notamment des ajoènes, des dithiényldisulfures et des trisulfures, qui contribuent à ses propriétés médicinales, telles que ses effets hypocholestérolémiants et sa capacité à soutenir la santé cardiovasculaire (Jikah et al., 2023 ; Bhatwalkar et al., 2021).
- **Glucides** : L'ail contient également des glucides, principalement sous forme de fructanes, qui agissent comme prébiotiques favorisant la santé intestinale en nourrissant les bonnes bactéries de l'intestin (Qiu et al., 2022).
- **Acides aminés** : Des acides aminés essentiels sont présents dans l'ail, bien que leur teneur soit relativement faible par rapport à d'autres sources de protéines (Rauf et al., 2022).
- **Minéraux et oligo-éléments** : Grâce à sa richesse en minéraux, l'ail contribue à maintenir un équilibre minéral optimal dans l'organisme (Gambelli et al., 2021).

5. Principaux effets

Les effets de l'*Allium sativum*, sur la santé ont été largement étudiés, et de nombreuses recherches ont mis en évidence ses propriétés bénéfiques pour divers aspects de la santé humaine :

5.1.Effets cardiovasculaires : L'ail est reconnu pour ses effets positifs sur la santé cardiovasculaire. Des études ont montré qu'il peut contribuer à abaisser la pression artérielle chez les personnes hypertendues, réduire le (LDL) et augmenter le (HDL), souvent appelé "bon" cholestérol. Ces effets sont attribués aux composés sulfurés présents dans l'ail, notamment l'allicine (**Asgharpour et al., 2024**).

5.2.Effets antimicrobiens : L'ail possède des propriétés antimicrobiennes contre un large éventail de bactéries, virus, champignons et parasites. Des études ont montré qu'il peut aider à combattre les infections respiratoires, gastro-intestinales et cutanées. Les composés sulfurés de l'ail sont considérés comme responsables de ces effets en perturbant les membranes cellulaires des micro-organismes (**Hernández-Montesinos et al., 2023**).

5.3.Effets anti-inflammatoires : Certains composés présents dans l'ail ont des propriétés anti-inflammatoires qui peuvent aider à réduire l'inflammation dans le corps. Cela peut être bénéfique pour des conditions telles que l'arthrite et d'autres troubles inflammatoires (**Recinella et al., 2022**).

5.4.Effets antioxydants : L'ail est une véritable mine d'antioxydants, notamment les flavonoïdes et les composés phénoliques. Ces molécules agissent en synergie pour neutraliser les radicaux libres et protéger l'organisme contre le stress oxydatif, un facteur clé dans le développement de nombreuses maladies chroniques (**Carreón-Delgado et al., 2023**).

5.5.Effets sur le système immunitaire : L'ail est également réputé pour renforcer le système immunitaire. Des études ont montré qu'il peut stimuler la production de certaines cellules immunitaires et améliorer la réponse immunitaire du corps aux infections (**Attia et al., 2023**).

5.6.Effets sur la santé osseuse : Des études ont suggéré que la consommation régulière d'ail pourrait être bénéfique pour la santé osseuse en favorisant la densité minérale osseuse et en réduisant le risque d'ostéoporose. Les composés sulfurés de l'ail peuvent jouer un rôle dans cette protection en stimulant la formation osseuse et en réduisant la résorption osseuse (**Mukherjee et al., 2004**).

5.7.Effets sur la digestion : L'ail est souvent utilisé pour favoriser la digestion et soulager les troubles gastro-intestinaux tels que les ballonnements et les flatulences. Il peut agir en stimulant la production de sucs digestifs et en favorisant la motilité intestinale, ce qui contribue à un système digestif sain (**Prabayanti et al., 2024**).

5.8.Effets sur la régulation du glucose sanguin : Certaines recherches suggèrent que l'ail pourrait avoir des effets bénéfiques sur la régulation du glucose sanguin chez les personnes atteintes de diabète ou de prédiabète. Il peut aider à améliorer la sensibilité à l'insuline et à réduire la résistance à l'insuline, contribuant ainsi à maintenir des niveaux de glucose sanguin plus stables (**Kamila et al., 2023**).

5.9.Effets sur la santé cognitive : Des études préliminaires ont exploré le potentiel de l'ail à améliorer la fonction cognitive et à protéger le cerveau contre le déclin cognitif lié à l'âge. Les antioxydants présents dans l'ail peuvent jouer un rôle dans cette protection en réduisant le stress oxydatif dans le cerveau (**Luo et al., 2021**).

CHAPITRE III :
LA VITAMINE C

Chapitre III : La vitamine C

1. Définition et caractéristique

La vitamine C, également connue sous le nom d'acide ascorbique, est un nutriment essentiel pour l'homme, reconnu pour ses multiples rôles biologiques et ses effets bénéfiques sur la santé. Découverte par le lauréat du prix Nobel Albert Szent-Gyorgyi en 1912 (**Andrade, 2024**), cette vitamine hydrosoluble est impliquée dans de nombreuses réactions biochimiques cruciales. Les mammifères sont naturellement incapables de synthétiser cette vitamine en raison d'une mutation du gène de la L-gulono- γ -lactone oxydase, qui code pour une enzyme impliquée dans la biosynthèse de cette vitamine (**Gad et Sirko, 2024**). Les agrumes, tels que les oranges, les citrons et les pamplemousses, restent parmi les principales sources alimentaires de vitamine C, bien que d'autres fruits et légumes frais en soient également riches (**Feszterová et al., 2023**). Sa capacité à agir comme un puissant antioxydant, à soutenir le système immunitaire, à favoriser la synthèse du collagène et à améliorer l'absorption du fer en fait un nutriment vital pour la santé humaine. Les directives diététiques recommandent des apports quotidiens spécifiques en vitamine C pour maintenir un équilibre nutritionnel optimal, avec des recommandations différentes pour les différents groupes démographiques. Cette revue introductive explore l'importance de la vitamine C dans la santé humaine (**Selvamary et al., 2020**).

2. Structure et propriété de la vitamine C

- **Structure chimique** : La vitamine C, est une molécule organique de formule chimique $C_6H_8O_6$, composée de six atomes de carbone (C_6), huit atomes d'hydrogène (H_8) et six atomes d'oxygène (O_6). Sa structure chimique comprend un cycle hexagonal avec deux fonctions alcool (OH) et une fonction acide carboxylique (COOH) situées sur deux atomes de carbone adjacents. La présence de ces groupes fonctionnels donne à la vitamine C ses propriétés acides et sa solubilité dans l'eau (**Tucaliuc et al., 2022**).

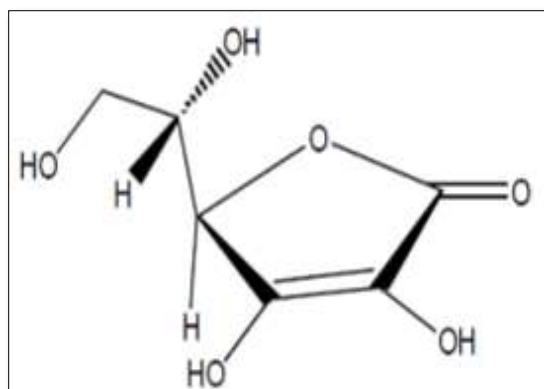


Figure 04 : Structure chimique de la vitamine C (Richard, 2001).

- **Propriétés physiques** : La vitamine C se présente sous forme de poudre cristalline blanche à jaune pâle. Elle est soluble dans l'eau et légèrement soluble dans l'éthanol. Sa solubilité dans l'eau en fait une vitamine hydrosoluble, ce qui signifie qu'elle est facilement absorbée et transportée dans le corps humain via la circulation sanguine (Buxeraud et Faure, 2021).
- **Propriétés chimiques** : La vitamine C est un acide faible qui peut se comporter comme un donneur de proton (H^+) dans les réactions acido-basiques. En tant qu'antioxydant, la vitamine C a la capacité de donner un électron pour neutraliser les radicaux libres, ce qui lui permet de protéger les cellules contre les dommages oxydatifs. Elle peut également agir comme un agent réducteur en transférant des électrons à d'autres substances, ce qui lui confère des propriétés de conservation alimentaire et de détoxification (Mumtaz et al., 2021).

3. Métabolisme de la vitamine C

Le métabolisme de la vitamine C, est un processus complexe impliquant son absorption, sa distribution, son utilisation et son élimination dans l'organisme humain.

- **Absorption** : La vitamine C est principalement absorbée dans l'intestin grêle, principalement dans sa forme non ionisée. L'absorption intestinale de la vitamine C est un processus actif qui implique le transport à travers la membrane cellulaire des cellules épithéliales intestinales. Le transporteur de vitamine C SVCT1 (Sodium-Dependent

Vitamin C Transporter 1) est responsable du transport actif de la vitamine C dans l'intestin grêle (Otten et al., 2021 ; Wang et al., 2023).

- **Distribution** : Une fois absorbée, la vitamine C est distribuée dans tout l'organisme par la circulation sanguine. Elle est transportée dans le plasma sanguin sous forme libre ou liée à des protéines plasmatiques. La vitamine C peut traverser facilement les membranes cellulaires grâce à la présence de transporteurs spécifiques, notamment le SVCT2 présent dans de nombreux tissus (Praditi et al., 2023).
- **Élimination** : L'excrétion rénale est la voie principale d'élimination de la vitamine C. Après filtration glomérulaire, une partie de la vitamine C est réabsorbée au niveau des tubules rénaux grâce au transporteur spécifique SVCT1. L'excès de vitamine C est excrété dans l'urine sous forme inchangée ou métabolisée en d'autres composés, tels que l'oxalate, l'acide ascorbique déshydrogénase, ou d'autres métabolites (Carr et Lunt, 2022).
- **Métabolisme des métabolites** : Une fois dans les cellules, la vitamine C peut subir une oxydation enzymatique pour former le déhydroascorbate (DHA), sa forme oxydée. Le DHA peut être recyclé en vitamine C active par des réactions réductrices enzymatiques impliquant le glutathion et d'autres cofacteurs (Ferrada et al., 2021).

4. Fonction de la vitamine C

4.1. Activité antioxydante : La vitamine C, un antioxydant puissant, préserve l'intégrité cellulaire en inhibant l'oxydation causée par les espèces réactives de l'oxygène. Son mécanisme d'action repose sur le don d'un électron, stabilisant ainsi les radicaux libres. En protégeant les cellules contre les dommages oxydatifs, la vitamine C contribue à la prévention des maladies cardiovasculaires, du cancer, du vieillissement prématuré et d'autres affections liées à l'oxydation cellulaire (Jamshidovich, 2023).

4.2. Absorption du fer : La vitamine C améliore l'absorption du fer non héminique (fer d'origine végétale) en réduisant le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}), une forme plus soluble et biodisponible. Cela favorise l'absorption du fer dans l'intestin grêle et contribue à la prévention de l'anémie ferriprive. La vitamine C est souvent recommandée de manière synergique avec les sources de fer végétal pour maximiser son absorption (Dosedel et al., 2021).

- 4.3.Soutien immunitaire** : La vitamine C joue un rôle dans le soutien du système immunitaire en stimulant la production et l'activité des globules blancs, y compris les lymphocytes et les phagocytes, qui sont impliqués dans la défense contre les infections et les agents pathogènes. Elle aide également à maintenir l'intégrité des barrières épithéliales, telles que celles du système respiratoire et gastro-intestinal, qui constituent la première ligne de défense contre les infections (**Harsij et al., 2020**).
- 4.4.Régénération de la vitamine E** : Après avoir neutralisé les radicaux libres, la vitamine E devient un radical libre lui-même. La vitamine C peut régénérer la vitamine E en donnant un électron, ce qui restaure son activité antioxydante et permet à la vitamine E de continuer à protéger les membranes cellulaires contre les dommages oxydatifs (**Shakerin et al., 2020**).
- 4.5.Soutien du système nerveux** : La vitamine C aide à fabriquer des substances importantes pour notre cerveau, comme la dopamine, la sérotonine et la noradrénaline, qui régulent notre humeur et nos émotions. Ces neurotransmetteurs jouent un rôle crucial dans la régulation de l'humeur, du sommeil, de l'appétit et du stress. Une carence en vitamine C peut affecter la production de neurotransmetteurs, ce qui peut contribuer à des problèmes de santé mentale tels que la dépression et l'anxiété (**Doseděl et al., 2021 ; Moritz et al., 2020**).
- 4.6.Protection contre les effets du stress** : La vitamine C est connue pour ses propriétés adaptogènes, c'est-à-dire sa capacité à aider l'organisme à s'adapter et à résister aux effets du stress physique, émotionnel et environnemental. Elle peut réduire les niveaux de cortisol, une hormone du stress, et atténuer les effets négatifs du stress oxydatif sur le corps. Une supplémentation en vitamine C peut être bénéfique pour aider à gérer le stress et à maintenir l'équilibre du système nerveux (**Moreira et al., 2022**).

ÉTUDE
EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE I :
MATÉRIEL ET
MÉTHODES

Chapitre I : Matériel et méthodes

1. Etude phytochimique :

1.1. Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé est constitué d'huile d'*Allium sativum* a été procurée du marché local de Skikda (la marque El-Captain, Egypt). L'huile est extraite par pression à froid.

1.2. Teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins de l'huile d'*Allium sativum* :

1.2.1. Dosage des polyphénols totaux :

La quantification des polyphénols totaux a été réalisée par colorimétrie. Les résultats ont été comparés à une courbe d'étalonnage établie à partir de solutions d'acide gallique ($y=3,704X$) (Bouaziz et Sayadi, 2005) (Annexe 01).

1.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux :

La quantification de contenu flavonoïque a été estimée par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) et la soude (NaOH). La concentration se déduit de l'équation de la courbe d'étalonnage de la quercétine ($Y=3,192X$) (Zhishen et al., 1999) (Annexe 02).

1.2.3. Dosage des tanins condensés :

Les tanins condensés ont été quantifiés en utilisant le réactif de vanilline en milieu acide. La quantification a été réalisée à partir d'une courbe d'étalonnage ($Y=3,813X$) obtenue avec la catéchine (Julkunen-Tiitto, 1985) (Annexe 03).

1.3. Evaluation de l'activité antioxydante :

1.3.1. Etude de l'activité antioxydante (Méthode DPPH) :

Le test utilisé pour mesurer le pouvoir anti-radicalaire d'un échantillon est celui décrit par Bouaziz et al., (2010).

1.3.2. Capacité antioxydante totale (CAT) :

Ce test est évalué par la méthode de phosphomolybdène. La capacité antioxydante totale est déterminée selon l'équation ($Y=4,239X$) (Prieto et al., 1999) (Annexe 04).

1.3.3. Dosage du pouvoir antioxydant par la méthode TEAC (Test de l'ABTS) :

L'étude de l'activité antioxydante a été réalisée par la méthode TEAC. La concentration est calculée à partir de l'équation ($Y=0,611 X +0,135$) selon Trauli et al., (2004) (Annexe 05).

2. Etude biologique :

2.1. Animaux et conditions d'élevage :

Notre étude expérimentale a porté sur un échantillon de 48 rats mâles adultes de souche Wistar, provenant de l'élevage de l'Institut Pasteur d'Algérie (Centre d'El Kouba). Ces rongeurs, pesant en moyenne $296,02 \pm 1,34$ g, ont été acclimatés pendant une quinzaine de jours aux conditions standard de notre animalerie (25°C, photopériode naturelle). L'élevage et l'expérimentation ont été réalisés dans l'animalerie de l'Université Badji Mokhtar - Annaba. Les rats étaient logés dans des cages en plastique, identifiées par des étiquettes, et maintenus sur une litière de copeaux de bois renouvelée quotidiennement. Ces animaux ont été nourris avec un concentré énergétiquement équilibré provenant de l'ONAB de Bejaïa et dont la composition est détaillée dans l'Annexe 06.

2.2. Traitement des rats :

Les rats ont été répartis de manière aléatoire en six groupes. Chaque groupe comprend de huit individus (n=8). Les rats ont été traités quotidiennement par gavage pendant 28 jours. La répartition des groupes de rats est effectuée de la manière suivante :

- **Groupe 1** : Aucun traitement n'a été administré
- **Groupe 2** : traitement unique par 100 mg/kg de TEB (Ben saad^a et al., 2017).
- **Groupe 3** : administration simultanée de 100 mg/kg de TEB et de 5 ml/kg d'HAS.
- **Groupe 4** : administration conjointe de 100 mg/kg de TEB et de 200 mg/kg de Vitamine C.
- **Groupe 5** : traitement exclusif par 5 ml/kg d'HAS (Hassan et al., 2010).
- **Groupe 6** : traitement unique par 200 mg/kg de vitamine C (Saoudi et al., 2011).

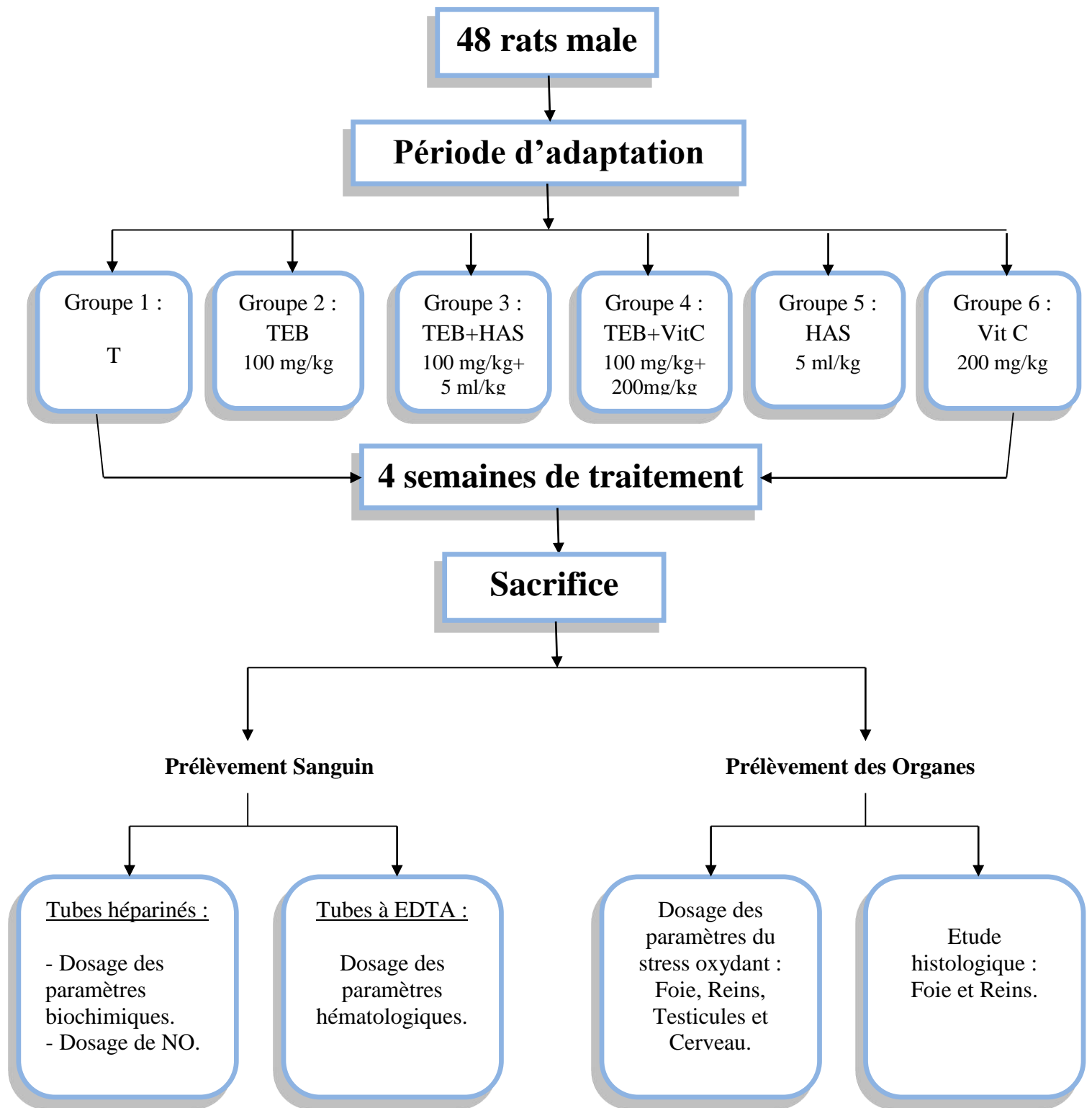


Figure 05 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental

3. Sacrifices des rats et prélèvement des échantillons :

3.1. Prélèvement sanguin :

À la fin de l'expérience, les animaux ont été sacrifiés par décapitation et leur sang a été collecté dans des tubes contenant de l'EDTA (FNS) et des tubes contenant de l'héparine. Ce dernier échantillon, après centrifugation, a fourni le plasma nécessaire aux analyses biochimiques. Le sérum a été stocké à -20°C.

3.2. Dissection et conservation des organes :

Les animaux ont subi une dissection abdominale pour prélever le foie, les reins, les testicules et le cerveau. Ces organes ont été traités de la manière suivante :

- **Foie et reins :** Fractionnement en deux parties : une pour la congélation (dosage des paramètres du stress oxydant) et l'autre pour la fixation au formol (coupes histologiques).
- **Testicules et cerveau :** Congélation intégrale pour le dosage des paramètres du stress oxydant.

3.3. Préparation de l'homogénat :

Un gramme de tissu frais prélevé sur chaque organe a été homogénéisé dans 2 mL de tampon phosphate (TBS : Tris 50mM, NaCl 150mM, pH 7.4), à l'aide d'un broyeur ultrason. Après centrifugation à 9000 rpm pendant 15 minutes à 4°C, les surnageants ont été collectés et aliquotés dans des tubes eppendorf. Ces aliquots ont été conservés à -20°C jusqu'à la réalisation des dosages des paramètres de stress oxydatif.

4. Détermination de la formule de numération sanguine (FNS) :

L'analyse hématologique a été réalisée sur un automate spécifique de type (ERMA, INK, model PCE-210N).

5. Mesure des paramètres biochimiques :

Les paramètres biochimiques ont été dosés selon les fiches techniques Spinreact (SPINREACT.S.A/SAU. Ctra.Santa Coloma, 7 E-17176 SANT ESTEV DE BAS (GI) SPAIN), en utilisant un automate (ILab 300 plus).

6. Dosage des paramètres de stress oxydant :

6.1. Dosage des protéines :

La quantité de protéines a été mesurée par la méthode de **Bradford, (1976)** et calculée à partir d'une courbe d'étalonnage (**Annexe 07**).

6.2. Détermination du taux de la malondialdéhyde (MDA) :

Le dosage de la malondialdéhyde (MDA) est réalisé selon la méthode de **Buege et Aust, (1978)**.

6.3. Détermination du taux des protéines carbonylées :

Les protéines carbonylées (marqueurs de l'oxydation protéique) sont mesurées selon la méthode de **Levine et al., (1990)** (**Figure 06**).

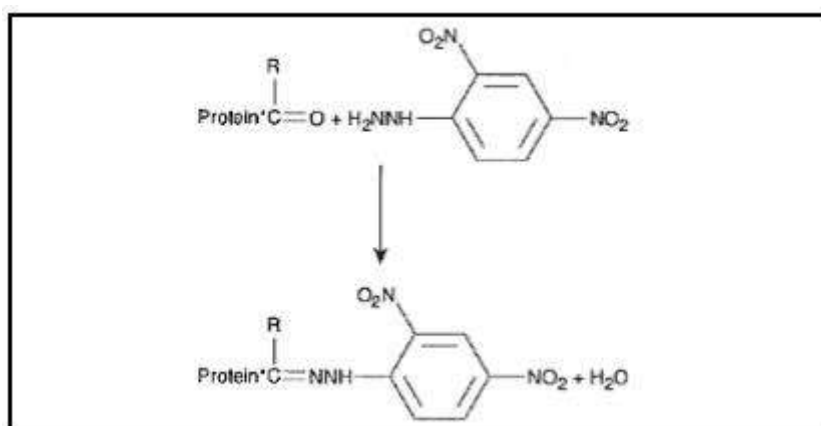


Figure 06 : Réaction entre les protéines carbonylées et le DNPH.

6.4. Détermination du taux des produits protéiques d'oxydation avancés (AOPP) :

Les produits protéiques d'oxydation avancés (AOPP) ont été déterminés selon la méthode de **Kayali et al., (2006)**.

6.5. Détermination du taux du glutathion réduit (GSH) :

Le dosage du glutathion (GSH) est réalisé selon la méthode d'**Ellman, (1959)** qui a été modifiée par **Jollow et al., (1974)**.

6.6. Détermination du taux de la Vitamine C (Vit C) :

La détermination du taux de la vitamine C est effectuée selon la technique de **Jacques-Silva et al., (2001)**. La densité optique obtenue est rapportée sur la courbe d'étalonnage, en utilisant une solution mère de la vitamine C comme un standard (**Annexe 08**).

6.7. Détermination de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) :

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de **Flohe et Gunzler, (1984)**.

6.8. Détermination de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase (SOD) :

L'activité de la superoxyde dismutase (SOD) est déterminée à partir de sa capacité d'inhiber la réduction du nitro-bleu tétrazolium(NBT) (**Beyer et Fridovich, 1987**).

6.9. Détermination de l'activité catalase (CAT) :

L'activité enzymatique de la catalase est déterminée par la méthode d'**Aebi, (1984)**.

6.10. Détermination de l'activité de la glutathion -S-transférase (GST) :

La méthode utilisée dans cette étude pour doser les GST est celle de **habig et al., (1974)**.

6.11. Détermination de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) :

La méthode utilisée est celle décrite par **Ellman et al., (1961)**. C'est une méthode colorimétrique.

6.12. Dosage de l'oxyde nitrique :

La détermination d'oxyde nitrique est déterminé selon la méthode de (**Oswald et al., 1992**). La concentration d'oxyde nitrique a été déterminée selon la courbe d'étalonnage, en utilisant le nitrite de sodium (NaNO_2) comme standard (**Annexe 09**).

7. Etude histologique :

Les coupes histologiques ont été réalisées à l'hôpital Saad Guermach de Skikda, Service d'Anatomie Pathologique à l'aide d'un appareil automatique (LEICA), suivant la technique décrite par **Hould, (1984)**.

8. Traitement statistique :

Les données sont présentées sous forme de moyenne plus ou moins l'écart-type (Moyenne \pm SEM). Un test "t" de Student a été réalisé à l'aide du logiciel Microsoft Excel (2007) pour comparer les moyennes du groupe témoin à celles de chacun des groupes expérimentaux. Le seuil de signification statistique a été fixé à $p < 0,05$.

CHAPITRE II :

RÉSULTATS

Chapitre II : Résultats

1. Etude phytochimique :

1.1. Teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins de l'huile d'*Allium sativum* :

L'analyse phytochimique de l'huile d'ail a permis de quantifier ses composés phénoliques. Les teneurs en phénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins condensés ont été déterminées par spectrophotométrie, en utilisant des courbes d'étalonnage établies respectivement avec l'acide gallique, la quercétine et la catéchine. Les résultats, présentés dans le **Tableau 02**, montrent que l'HAS contient 1,67 mg de phénols totaux, 1,61 mg de flavonoïdes et 0,95 mg de tanins condensés.

1.2. Evaluation de l'activité antioxydante :

L'activité antioxydante de l'huile d'ail a été évaluée par trois méthodes distinctes : le test au DPPH, le test TEAC et la détermination de la capacité antioxydante totale (CAT).

L'activité antiradicalaire d'HAS a été évaluée par le test du piégeage du DPPH, elle a été exprimée par le calcul de l'IC 50. Une fois obtenue, cette valeur a été comparée à celle du BHT et de l'acide ascorbique qui sont des antioxydants synthétiques de référence. Dans la présente étude, l'IC50 d'HAS a été estimé à $72,5 \pm 2,42$ mg/ml. Cependant, la valeur de l'HAS sur l'activité d'absorption des radicaux ABTS était de 1,17 mg avec la capacité totale d'antioxydant (CAT) égale à 1,5 mg.

Tableau 02 : Teneurs en composés phénoliques, en flavoïnoïdes, en tanins condensés et activité antioxydante de l'huile d'*Allium sativum*.

Teneur en polyphénols totaux (mg EAG /100 g HAS)	1,67±0,05
Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g HAS)	1,61±0,02
50% potentiel anti-radicalaire de DPPH (mg/ml)	72,50±2,42
Teneur en tanins condensés (mg EC/g HAS)	0,95±0,07
ABTS	1,17±0,02
CAT (mg d'acide ascorbique/ g HAS)	1,50±0,16

2. Etude pondérale :

2.1. Variation du poids corporel :

Le traitement par le TEB a entraîné une perte très hautement significative du poids corporel de l'ordre de 12,90% par rapport au groupe témoin ($p \leq 0,001$). À l'inverse, la co-administration de TEB et d'HAS a permis de limiter cette perte de poids (+9,55% par rapport au groupe TEB, $p \leq 0,01$). Aucun effet significatif n'a été observé avec la combinaison TEB+vitamine C (**Tableau 03**).

Les rats traités par le TEB ont perdu leurs poids corporels en moyenne 8,32 g par rapport aux groupes témoins et HAS. À l'inverse, les groupes traités par la vitamine C ou par la combinaison (TEB+HAS / TEB+VIT C) ont gagné en poids, avec des augmentations allant de 12,12 g à 44,8 g (**Tableau 03**).

2.2. Variation de la consommation quotidienne d'aliment :

Le traitement des rats par le TEB a entraîné une diminution significative de 23,51% de la consommation alimentaire ($p \leq 0,05$). À l'inverse, la co-administration de TEB et d'HAS a stimulé l'appétit, avec une augmentation de 12,36% ($p \leq 0,05$). La vitamine C n'a pas eu d'effet significatif (**Tableau 04**).

2.3. Variation de la consommation quotidienne d'eau de boisson :

Les rats traités par le TEB ont significativement augmenté leur consommation d'eau (+28,50%, $p \leq 0,01$) par rapport au groupe contrôle. Aucun effet similaire n'a été observé chez les autres groupes traités (**Tableau 04**).

Tableau 03 : Variation du poids corporel (g) chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines du traitement.

Paramètres	Groupes expérimentaux					
	T	TEB	TEB+HAS	TEB+Vit C	HAS	Vit C
Poids initial (g)	297,14±21,20	297,12±21,54	296,13±21,62	294,6±25,88	294,14±12,68	297±23,62
Poids final (g)	331,6±12,3	288,8±12,39 (***)	316,4±20,19 (##)	306,8±23,30	322,4±9,63	341,8±31,68
%	-	-12,90	+9,55	+6,23	-2,77	+3,07
Gain de poids (g)	+34,46	-8,32	+20,27	+12,12	+28,26	+44,8

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne ± SEM (n =6 rats) ;

(*** p ≤0,001) vs groupe témoins.

(## p ≤0,01) vs groupe traités par TEB.

Tableau 04 : Variation de la consommation d'aliment (g/j/rat) et de l'eau de boisson (ml/j/rat) chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines du traitement.

Paramètres	Groupes expérimentaux					
	T	TEB	TEB+HAS	TEB+Vit C	HAS	Vit C
Quantité d'aliment consommée (g/rat/j)	19,56±0,87	14,96±3,66 (*)	16,81±1,74 (*)	16,21±2,54	17,18±4,25	19,93±0,12
%	-	-23,51	+12,36	+8,35	-12,16	+1,89
Quantité d'eau consommée (ml/rat/j)	22,49±0,62	28,9±3 (**)	28,66±5,87	25,83±5,76	21,45±2,01	22,63±2,63
%	-	+28,50	-0,83	-10,62	-4,62	+0,62

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne ± SEM (n =6 rats) ;

(* p ≤0,05 ; ** p ≤0,01) vs groupe témoins.

2.4. Variation du poids relatif de certains organes :

➤ **Foie** : Le traitement par le TEB a induit une augmentation très hautement significative de 64,37% du poids relatif du foie ($p \leq 0,001$). En revanche, les combinaisons TEB+HAS et TEB+Vit C ont entraîné une diminution significative de ce poids, respectivement de 26,37% ($p \leq 0,01$) et 30,54% ($p \leq 0,001$) par rapport au groupe TEB (**Tableau 05**).

➤ **Reins** : Le traitement par le TEB a induit une augmentation hautement significative de 41,66% du poids relatif des reins ($p \leq 0,01$). La combinaison TEB+HAS a entraîné une diminution de 17,64% ($p \leq 0,01$) par rapport aux témoins. La combinaison TEB+Vit C a également réduit le poids relatif des reins, mais de manière moins importante (-25%) par rapport au groupe TEB ($p \leq 0,05$) (**Tableau 05**).

➤ **Testicules** : Le traitement par le TEB a entraîné une augmentation hautement significative de 29,47% du poids relatif des testicules ($p \leq 0,01$). Les combinaisons TEB+HAS et TEB+Vit C ont inversé cette tendance, avec des diminutions respectives de 17,07% ($p \leq 0,01$) et 21,95% ($p \leq 0,001$) par rapport au groupe TEB (**Tableau 05**).

➤ **Cerveau** : Le traitement par le TEB a entraîné une augmentation significative de 13,15% du poids relatif du cerveau ($p \leq 0,05$). Aucun effet similaire n'a été observé avec les autres traitements (**Tableau 05**).

Tableau 05 : Variation du poids relatif (g /100g du Poids corporel) des organes prélevés (foie. Reins. Testicules et cerveau) chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines du traitement.

Paramètres	Groupes expérimentaux					
	T	TEB	TEB+HAS	TEB+Vit C	HAS	Vit C
Poids relatif du foie (g/100g PC)	2,33±0,18	3,83±0,57 (***)	2,82±0,58 (*,##)	2,66±0,26 (*,###)	2,67±0,22	2,48±0,20
%	-	+64,37	-26,37	-30,54	+14,59	+6,43
Poids relatif des reins (g/100g PC)	0,48±0,01	0,68±0,10 (**)	0,56±0,03 (**,#)	0,51±0,01 (##)	0,48±0,05	0,50±0,02
%	-	+41,66	-17,64	-25	00	+4,16
Poids relatif des testicules (g/100g PC)	0,95±0,08	1,23±0,10 (**)	1,02±0,04 (##)	0,96±0,05 (###)	0,85±0,15	0,91±0,02
%	-	+29,47	-17,07	-21,95	-10,52	-4,21
Poids relatif du cerveau (g/100g PC)	0,38±0,03	0,43±0,03 (*)	0,40±0,04	0,37±0,06	0,36±0,02	0,36±0,03
%	-	+13,15	-6,97	-13,95	-5,26	-5,26

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne ± SEM (n =6 rats) ;

(* p ≤0,05 ; ** p ≤0,01 ; *** p ≤0,001) vs groupe témoins.

(# p ≤0,05 ; ## p ≤0,01 ; ### p ≤0,001) vs groupe traités par TEB.

3. Variation des paramètres hématologiques

3.1. Nombre des globules rouges

Le traitement par le TEB a entraîné une diminution significative de 34,73% du nombre de globules rouges ($p \leq 0,05$). Les autres traitements n'ont pas eu d'effet significatif (**Tableau 06**).

3.2. Nombre des globules blancs

Le traitement par le TEB a induit une augmentation très hautement significative de 64,49% du nombre de globules blancs ($p \leq 0,001$). Les combinaisons TEB+HAS et TEB+Vit C ont inversé cette tendance, avec des diminutions respectives de 21,9% ($p \leq 0,01$) et 28,41% ($p \leq 0,001$) par rapport au groupe TEB (**Tableau 06**).

3.3. Taux d'hématocrite

Le traitement par le TEB a entraîné une diminution hautement significative de 15,59% de l'hématocrite ($p \leq 0,01$). Les combinaisons TEB+HAS et TEB+Vit C ont inversé cette tendance, avec des augmentations respectives de 13,66% ($p \leq 0,05$) et 10,42% par rapport au groupe TEB (**Tableau 06**).

3.4. Taux d'hémoglobine

Le traitement par le TEB a entraîné une diminution hautement significative de 18,27% du taux d'hémoglobine ($p \leq 0,01$). Les combinaisons TEB+HAS et TEB+Vit C ont inversé cette tendance, avec des augmentations respectives de 11,35% ($p \leq 0,05$) et 11,12% par rapport au groupe TEB (**Tableau 06**).

3.5. Taux des plaquettes

Aucun des traitements étudiés n'a modifié de manière significative le taux de plaquettes par rapport au groupe témoin (**Tableau 06**).

Tableau 06 : Variation des paramètres hématologiques chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines du traitement.

Paramètres	Groupes expérimentaux					
	T	TEB	TEB+HAS	TEB+Vit C	HAS	Vit C
Globules rouges (x10 ⁶ /µl)	3,8±1,43	2,48±0,58 (*)	2,98±1,39	2,54±0,33	3,12±0,31	2,96±0,45
%	-	-34,73	+20,16	+2,41	-17,89	-22,10
Globules blancs (x10 ³ /µl)	7,66±1	12,6±1,21 (***)	9,84±2 (*) (##)	9,02±0,47 (###)	8,08±0,97	7,62±0,87
%	-	+64,49	-21,9	-28,41	+5,48	-0,52
Taux HB (g/dl)	21,12±1,74	17,26±1,89 (**)	19,22±1,55 (#)	19,18±1,33 (#)	20,84±2,02	19,5±1,29
%	-	-18,27	+11,35	+11,12	-1,32	-7,67
Taux d'hématocrite (%)	50,48±4,34	42,58±4,47 (**)	48,4±2,96 (#)	47,02±3,13 (#)	45,34±5,15	47,46±3,67
%	-	-15,59	+13,66	+10,42	-10,18	-5,98
Plaquettes (10 ³ /µl)	555,4±59,12	515,6±33,93	551,8±33,16	571,8±45,38	592,6±58,09	575±65,79
%	-	-7,16	-6,56	+10,89	+6,69	+3,52

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne ± SEM (n =6 rats) ;

(* p ≤0,05 ; **p≤ 0,01 ; *** p ≤0,001) vs groupe témoins.

(# p ≤0,05 ; ## p ≤ 0,01 ; ### p ≤0,001) vs groupe traités par TEB.

4. Action sur les biomarqueurs plasmatiques de la fonction hépatique :

4.1.Effet sur l'activité des aminotransaminases :

Le traitement par le TEB a induit une augmentation significative des activités de l'ASAT (+52,38%, $p \leq 0,01$) et de l'ALAT (+18,34%, $p \leq 0,001$). La co-administration de vitamine C a atténué l'élévation de l'ALAT ($p \leq 0,05$) mais n'a pas modifié celle de l'ASAT. La combinaison TEB+HAS n'a eu aucun effet supplémentaire sur les transaminases (**Tableau 07**).

4.2.Effet sur l'activité de la phosphatase alcaline (PAL) :

Le traitement par le TEB a induit une augmentation très hautement significative de l'activité de la PAL (+92,41%, $p \leq 0,001$). La co-administration de vitamine C a atténué cet effet (+31,65%, $p \leq 0,01$). La combinaison TEB+HAS n'a pas modifié l'activité de la PAL par rapport au groupe TEB (**Tableau 07**).

4.3.Effet sur l'activité de lactate déshydrogénase (LDH) :

Le traitement par le TEB a augmenté significativement l'activité de la LDH (+26,72%, $p \leq 0,05$). La combinaison TEB+HAS a atténué cette augmentation (-20,29%, $p \leq 0,05$), tandis que la combinaison (TEB+VIT C) n'a pas eu d'effet significatif avec le groupe traité par le TEB (**Tableau 07**).

4.4.Effet sur l'activité des gamma-glutamyl-transpeptidase (GGT) :

Le traitement par le TEB a induit une augmentation hautement significative de l'activité GGT (+135,71%, $p \leq 0,01$). La co-administration d'HAS a atténué cette augmentation (-22,72%, $p \leq 0,01$), tandis que la vitamine C l'a réduite de manière plus importante (-51,51%, $p \leq 0,05$) (**Tableau 07**).

5. Effet sur la concentration plasmatique en bilirubine totale :

Aucun des traitements étudiés n'a modifié de manière significative les niveaux de bilirubine totale par rapport au groupe témoin (**Tableau 07**).

6. Effet sur la concentration plasmatique en glucose :

Le traitement par le TEB a augmenté significativement la glycémie (+12,35%, $p \leq 0,01$). La co-administration de vitamine C a atténué cette hyperglycémie (-7%, $p \leq 0,05$), tandis que l'HAS n'a pas eu d'effet significatif (**Tableau 07**).

7. Effet sur la concentration plasmatique en protéines totales et en albumine :

Le traitement par le TEB a diminué significativement les protéines totales (-9,24%, $p \leq 0,01$) et l'albumine (-23,35%, $p \leq 0,001$). La combinaison TEB+HAS a partiellement restauré l'albumine (+19,04%, $p \leq 0,01$), tandis que le groupe traité par la combinaison TEB+VIT C a augmenté à la fois les protéines totales (+5,74%, $p \leq 0,05$) et l'albumine (+15,23%, $p \leq 0,01$) par rapport au groupe TEB (**Tableau 07**).

8. Effet sur la concentration plasmatique en cholestérol et en triglycérides :

Le TEB a augmenté significativement le cholestérol (+50,68%, $p \leq 0,001$) et diminué les triglycérides (-41,66%, $p \leq 0,01$). La combinaison TEB+HAS a atténué ces effets, diminuant légèrement le cholestérol (-8,18%, $p \leq 0,05$) et augmentant les triglycérides (+30,95%, $p \leq 0,05$). La combinaison TEB+VIT C a davantage réduit le cholestérol (-10%, $p \leq 0,05$) tout en augmentant considérablement les triglycérides (+76,19%, $p \leq 0,01$) (**Tableau 07**).

Tableau 07 : Variation de quelques paramètres biochimiques de la fonction hépatique chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines du traitement.

Paramètres	Groupes expérimentaux					
	T	TEB	TEB+HAS	TEB+Vit C	HAS	Vit C
ALAT (U/L)	154,8±18,89	183,2±16,05 ^(***)	152,2±27,95	157,4±19,09 ^(#)	132,4±9,44	165,4±16,63
%	-	+18,34	-16,92	-14,08	-14,47	+6,84
ASAT (U/L)	54,6±7,86	83,2±8,37 ^(***)	64,6±8,01	79,2±9,8 ^(***)	52,2±6,79	58,2±11,16
%	-	+52,38	-22,35	-4,80	-4,39	+6,59
PAL (U/L)	171,4±45,61	329,8±50,98 ^(***)	230,4±69,76	225,4±40,05 ^{(##)(*)}	157,6±54	171,8±46,15
%	-	+92,41	-30,13	-31,65	-8,05	+0,23
LDH (U/L)	847±185,20	1073,4±134,88 ^(*)	855,2±158,51 ^(*)	1023,6±36,86	890,4±17,7	917,4±157,27
%	-	+26,72	-20,29	-4,63	+5,12	+8,31
GGT	2,8±2,28	6,6±2,07 ^(**)	5±1,87 ^(##)	3,2±2,94 ^(#)	4,6±1,94	1,2±1,09
%	-	+135,71	-22,72	-51,51	+64,28 ^(*)	-57,14
Bilirubine (mg/dl)	1±0,7	1,6±0,89	1±0	0,6±0,89 ^(#)	0,4±0,54 ^(**)	0,2±0,44 ^(**)
%	-	+60	-37,5	-62,5	-60	-80
Glucose (mg/dl)	0,89±0,07	1±0,01 ^(**)	0,89±0,03	0,93±0,06 ^(#)	0,84±0,045	0,88±0,08
%	-	+12,35	-11	-7	-5,61	-1,12
Protéines totales (g/dl)	84,4 3,28	76,6 3,13 ^(**)	82±2,54	81±2,91 ^(#)	81,6±2,07	80,2±2,86
%	-	-9,24	+7,04	+5,74	-3,31	-4,97
Albumine (g/dl)	27,4±1,67	21±2 ^(***)	25±1,22 ^(##)	24,2±1,48 ^{(##)(**)}	27,2±0,83	27,8±0,83
%	-	-23,35	+19,04	+15,23	-0,72	+1,45
Cholestérol (mg/dl)	0,73±0,04	1,10±0,05 ^(***)	1,01±0,1 ^(#)	0,99±0,11 ^(#)	0,8±0,04	0,69±0,09
%	-	+50,68	-8,18	-10	+9,58	-5,47
Triglycérides (mg/dl)	0,72±0,19	0,42±0,04 ^(**)	0,55±0,13 ^(#)	0,74±0,25 ^(##)	0,89±0,22	1,11±0,2 ^(**)
%	-	-41,66	+30,95	+76,19	+23,61	+54,16

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne ± SEM (n =6 rats) ;

(* p ≤ 0,05 ; ** p ≤ 0,01 ; *** p ≤ 0,001) vs groupe témoins.

(# p ≤ 0,05 ; ## p ≤ 0,01) vs groupe traités par TEB.

9. Action sur les biomarqueurs plasmatiques de la fonction rénale

9.1. Effet sur la concentration plasmatique en urée :

Le TEB a augmenté significativement l'urée plasmatique (+24,39%, $p \leq 0,05$). La combinaison TEB+VIT C a atténué cet effet (-11,76%, $p \leq 0,01$), tandis que la combinaison TEB+HAS n'a pas montré de différence significative (**Tableau 08**).

9.2. Effet sur la concentration plasmatique en créatinine :

Le TEB a augmenté significativement la créatininémie (+10,54%, $p \leq 0,05$). La co-administration d'HAS a réduit cette augmentation (-13,53%, $p \leq 0,01$), tandis que La co-administration de la VIT C l'a également diminuée (-9,31%, $p \leq 0,05$) **Tableau 08**.

Tableau 08 : Variation du taux plasmatique de l'urée et de la créatinine chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines du traitement.

Paramètres	Groupes expérimentaux					
	T	TEB	TEB+HAS	TEB+Vit C	HAS	Vit C
Urée (mg/dl)	0,41±0,09	0,51±0,02 (*)	0,48±0,03	0,45±0,02 (##)	0,42±0,02	0,43±0,02
%	-	+24,39	-5,88	-11,76	+2,43	+4,87
Créatinine (mg /dl)	6,22±0,27	6,87±0,73 (*)	5,94±0,23 (##)	6,23±0,34 (#)	5,72±0,25	6,23±1,11
%	-	+10,54	-13,53	-9,31	-8,03	+0,16

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n =6 rats) ;

(* $p \leq 0,05$) vs groupe témoins.

(# $p \leq 0,05$) ; ## $p \leq 0,01$) vs groupe traités par TEB.

10. Exploration du profil du stress oxydant :

10.1. Effet sur le taux du malondialdéhyde :

Le traitement par le TEB a entraîné une augmentation hautement significative du MDA dans le foie (+55,77%, $p \leq 0,01$), les reins (+33,71%, $p \leq 0,01$), les testicules (+31,11%, $p \leq 0,01$) et le cerveau (+59,43%, $p \leq 0,001$).

La co-administration d'HAS a réduit ces augmentations dans le foie (-26,53%, $p \leq 0,05$), les testicules (-27,25%, $p \leq 0,05$) et le cerveau (-12,97%, $p \leq 0,05$), sans effet significatif sur les reins. La vitamine C a, quant à elle, diminué le MDA dans tous les organes étudiés par rapport au groupe TEB (**Tableau 09**).

Tableau 09 : Variation des taux de la malondialdéhyde (MDA) (nmol/mg de protéine) dans le foie, les reins, les testicules et le cerveau chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines du traitement.

Organes étudiés	Groupes expérimentaux					
	T	TEB	TEB+HAS	TEB+Vit C	HAS	Vit C
Foie	8,72±2,19	15,45±3,8 ^(**)	11,35±3,64 ^(#)	11,46±1,74 ^(#)	9,42±2,83	8,73±2,62
%	-	+77,17	-26,53	-25,82	+8,02	+0,11
Reins	13±2,95	19,49±4,4 ^(**)	14,07±5,33	13,39±2,93 ^(##)	13,15±2,82	11,85±2,39
%	-	+49,92	-27,8	-31,29	+1,15	-8,84
Testicules	8,16±1,93	13,87±3,2 ^(**)	10,09±1,68 ^(#)	11,02±1,27 ^(#)	7,25±1,55	8,17±1,38
%	-	+69,97	-27,25	-20,54	-11,15	+0,12
Cerveau	5,59±0,57	10,17±1,55 ^(***)	8,85±0,49 ^(#)	8,27±1,86 ^(#)	6,3±1,11	6,92±1,25 ^(#)
%	-	+81,93	-12,97	-18,68	+12,7	+23,79

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n =6 rats) ;

(** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$) vs groupe témoins.

(# $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$) vs groupe traités par TEB.

10.2. Effet sur le taux des protéines carbonylées :

L'activité PCO a été significativement accrue dans le foie (+43,06%, $p \leq 0,01$) et très hautement significative dans les reins (+101,7%, $p \leq 0,001$) des rats traités par le TEB. La co-administration de HAS a réduit cette concentration de manière significative dans les reins (-37,81%, $p \leq 0,01$) et le foie (-9,2%, $p \leq 0,05$). La vitamine C a diminuée l'activité PCO hépatique (10,76%, $p \leq 0,05$) et rénale (-22,3%, $p \leq 0,05$) par rapport au groupe TEB (**Figure 12**).

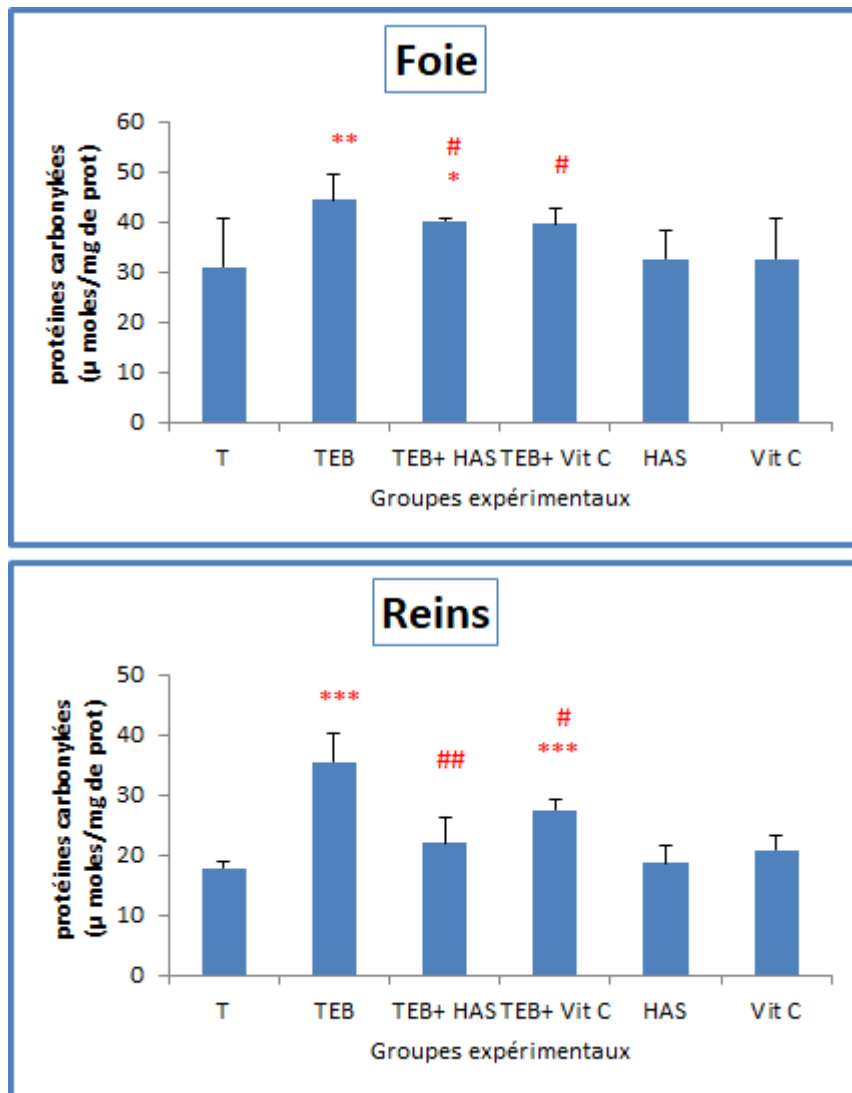


Figure 07 : Variation des taux des protéines carbonylées (PCO) dans le foie et les reins chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines du traitement.

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n =6 rats) ;

(* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$) vs groupe témoins.

(# $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$) vs groupe traités par TEB.

10.3. Effet sur le taux des produits protéiques d'oxydation avancée (AOPP) :

Le TEB a induit une augmentation significative d'AOPP dans le foie (+63,04%, $p \leq 0,05$), les reins (+187,26%, $p \leq 0,001$), les testicules (+28.65%, $p \leq 0,05$) et le cerveau (+94%, $p \leq 0,001$). La co-administration de HAS a uniquement réduit de manière hautement significative cette concentration dans le cerveau (-22,33%, $p \leq 0,01$). La vitamine C a diminué significative cette concentration dans les reins (-73,63%, $p \leq 0,05$) et le cerveau (-42,61%, $p \leq 0,001$) (**Figure 13**).

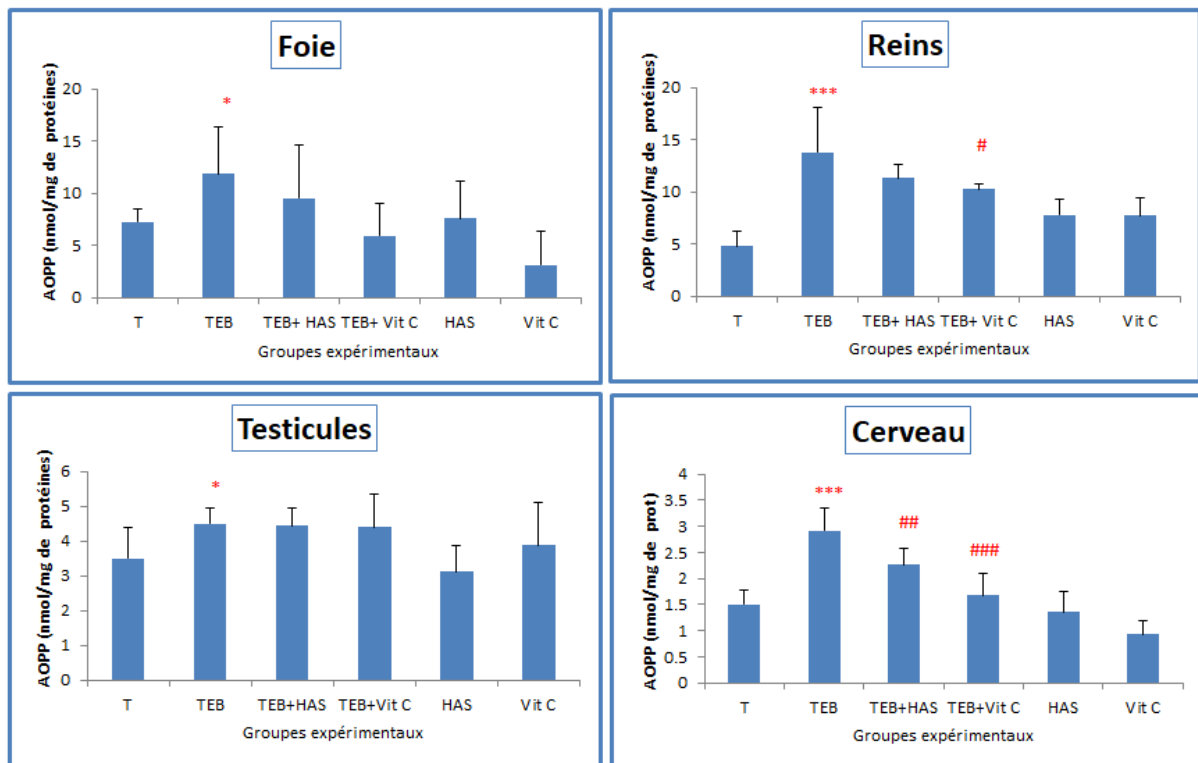


Figure 08 : Variation des taux en produits protéiques d'oxydation avancée (AOPP) (dans le foie, les reins, les testicules et le cerveau chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines du traitement.

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n =6 rats) ;

(* $p \leq 0,05$; *** $p \leq 0,001$) vs groupe témoins.

(# $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$) vs groupe traités par TEB.

10.4. Effet sur la teneur en glutathion réduit (GSH) :

Le traitement par le TEB a entraîné une diminution très hautement significative des niveaux de GSH dans le foie (-46,54%, $p \leq 0,001$) et les testicules (-47,16%, $p \leq 0,001$), une diminution hautement significative dans les reins (-53,84%, $p \leq 0,01$) et une diminution significative dans le cerveau (-27,5%, $p \leq 0,05$). La co-administration de HAS a augmenté significativement le GSH dans le foie (+51,72%, $p \leq 0,05$) et les reins (+25,55%, $p \leq 0,05$), et hautement significative dans les testicules (+39,28%, $p \leq 0,01$). La vitamine C a également augmenté le GSH dans le foie (+48,27%, $p \leq 0,05$), les reins (+22,22%, $p \leq 0,05$) et le cerveau (+24,13%, $p \leq 0,05$) (Tableau 10).

Tableau 10 : Variation des taux du glutathion réduit (GSH) (nmol/mg de protéine) dans le foie, les reins, les testicules et le cerveau chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines du traitement.

Organes étudiés	Groupes expérimentaux					
	T	TEB	TEB+HAS	TEB+Vit C	HAS	Vit C
Foie	2,17±0,25	1,16±0,41 (***)	1,76±0,43 ^(*) , ^(#)	1,72±0,31 ^(#)	2,08±0,36	2,29±0,46
%	-	- 46,54	+51,72	+48,27	-4,14	+5,52
Reins	1,95±0,1	0,9±0,2 (**)	1,13 ±0,13 ^(#)	1,1±0,12 ^(#)	1,37± 0,05	1,27±0,21
%	-	- 53,84	+ 25,55	+22,22	-29,24	-34,87
Testicules	0,53±0,08	0,28±0,05 (***)	0,39±0,06 ^(##)	0,31±0,06	0,49±0,06	0,45±0,04
%	-	- 47,16	+39,28	+10,71	-7,54	-15,09
Cerveau	0,4±0,05	0,29±0,07 ^(*)	0,39±0,12	0,36±0,036 ^(#)	0,41±0,05	0,38±0,08
%	-	- 27,5	+ 34,48	+24,13	+2,5	-5

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n =6 rats) ;

(* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$) vs groupe témoin.

(# $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$) vs groupe traités par TEB.

10.5. Effet sur la teneur en vitamine C

Le TEB a induit une diminution hautement significative des niveaux de vitamine C dans le foie (-23,52%, $p \leq 0,01$) et les reins (-12,5%, $p \leq 0,01$), et une diminution significative dans les testicules (-17,24%, $p \leq 0,05$). La co-administration de HAS a augmenté significativement les niveaux de vitamine C dans le foie (+23,07%, $p \leq 0,05$) et les reins (+12,5%, $p \leq 0,05$). La supplémentation en vitamine C a également augmenté les niveaux de vitamine C hépatique (+15,38%, $p \leq 0,05$) et rénales (+21,42%, $p \leq 0,05$) (**Tableau 11**).

Tableau 11 : Variation des taux de la vitamine C ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéine) dans le foie, les reins et les testicules chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines du traitement.

Organes étudiés	Groupes expérimentaux					
	T	TEB	TEB+HAS	TEB+Vit C	HAS	Vit C
Foie	0,17±0,004	0,13±0,01 (**)	0,16±0,009 (#)	0,15±0,008 (#)	0,16±0,005	0,2±0,01
%	-	-23,52	+23,07	+15,38	-5,88	+17,64
Reins	0,16±0,01	0,14±0,007 (**)	0,16±0,01 (#)	0,17±0,02 (#)	0,16±0,007	0,17±0,009
%	-	-12,5	+14,28	+21,42	00	+6,25
Testicules	0,029±0,002	0,024±0,002 (*)	0,02±0,01	0,02±0,005	0,03±0,01	0,03±0,006
%	-	-17,24	-31,03	-31,03	+3,44	+3,44

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n =6 rats) ;

(* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$) vs groupe témoins.

(# $p \leq 0,05$) vs groupe traités par TEB.

10.6. Effet sur les activités des enzymes antioxydantes :

➤ Glutathion peroxydase (GPx) :

Le traitement par le TEB a entraîné une diminution très hautement significative de l'activité de la GPx dans le foie (-55,64%, $p \leq 0,001$), les reins (-50%, $p \leq 0,001$) et les testicules (-30%, $p \leq 0,01$). La co-administration de HAS a augmenté hautement significativement cette activité dans le foie (+63%, $p \leq 0,01$), les reins (+68,25%, $p \leq 0,001$) et les testicules (+73,8%, $p \leq 0,001$). La vitamine C a encore plus augmenté cette activité, avec des augmentations très hautement significatives dans le foie (+113,87%, $p \leq 0,01$) et les reins (+78,57%, $p \leq 0,001$), et une augmentation significative dans les testicules (+100%, $p \leq 0,05$) (**Tableau 12**).

Tableau 12 : Activités de la glutathion peroxydase (GPx) (nmol GSH/min/mg de protéine) dans le foie, les reins et les testicules chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines du traitement.

Les organes	Groupes expérimentaux					
	T	TEB	TEB+HAS	TEB+Vit C	HAS	Vit C
Foie	3,9±0,86	1,73±0,7 (***)	2,82±0,62 (*)(,##)	3,7±0,98 (##)	4,42±1,8	3,69±1,2
%	-	-55,64	+63	+113,87	+13,33	-5,38
Reins	2,52±0,23	1,26±0,35 (***)	2,12±0,31 (*)(,###)	2,25±0,25 (###)	2,66±0,64	2,37±0,37
%	-	-50	+68,25	+78,57	+5,55	-5,95
Testicules	1,2±0,32	0,84±0,05 (**)	1,46±0,28 (###)	1,68±1,06 (#)	1,38±0,59	1,28±0,42
%	-	-30	+73,8	+100	+15	+6,66
Cerveau	2,26±0,75	1,69±0,42	2,09±0,57	2,02±0,53	2,21±0,59	2,2±0,49
%	-	-25,22	+23,66	+19,52	-2,21	-2,65

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n =6 rats) ;

(* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$) vs groupe témoins.

(# $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$; ### $p \leq 0,001$) vs groupe traités par TEB.

➤ **Superoxyde dismutase (SOD) :**

Le traitement par le TEB a entraîné une diminution significative de l'activité de la SOD dans le foie (-7,54%, $p \leq 0,05$) et les reins (-10,52%, $p \leq 0,01$). La supplémentation en vitamine C a légèrement augmenté cette activité dans le foie (+0,8%, $p \leq 0,05$) et de manière significative dans les reins (+10,04%, $p \leq 0,01$). La combinaison TEB+HAS n'a pas eu d'effet significatif sur l'activité de la SOD (**Tableau 13**).

Tableau 13 : Activité du superoxyde dismutase (U/mg de protéines) dans le foie et les reins chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines du traitement.

Organes étudiés	Groupes expérimentaux					
	T	TEB	TEB+HAS	TEB+Vit C	HAS	Vit C
Foie	46,77±2,51	43,24±2,89 (*)	45,71±3,95	43,59±1,85 (#)	45,91±3,95	45,4±2,4
%	-	-7,54	+5,71	+0,8	-1,83	-2,92
Reins	44,73±1,65	40,02±2,36 (**)	43,52±3,31	44,04±2,08 (##)	44,34±4,24	46,45±3,43
%	-	-10,52	+8,74	+10,04	-0,87	+3,84

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n =6 rats) ;

(* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$) vs groupe témoins.

(# $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$) vs groupe traités par TEB.

➤ **Catalase (CAT) :**

Le traitement par le TEB a entraîné une diminution hautement significative de l'activité de la catalase dans le foie (+43,02%, $p \leq 0,01$) et les reins (+43,02%, $p \leq 0,05$). La co-administration de vitamine C a légèrement augmenté cette activité dans le foie (-5,93%, $p \leq 0,05$), tandis que la combinaison TEB+HAS a entraîné une augmentation significative dans le foie (+7,87%, $p \leq 0,05$). Aucune différence significative n'a été observée dans les reins pour les groupes traités par les combinaisons (**Tableau 14**).

Tableau 14 : Activités de la catalase ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) dans le foie et les reins chez les rats témoins et traités après 4 semaines du traitement.

Organes étudiés	Groupes expérimentaux					
	T	TEB	TEB+HAS	TEB+Vit C	HAS	Vit C
Foie	76,26±4,13	67,68±3,97 (**)	73,01±4,21 (#)	63,66±4,15 (#)	76,01±4,56	74,05±4,39
%	-	-11,25	+7,87	-5,93	-0,32	-2,89
Reins	46,81±2,42	43,72±0,52 (*)	45,99±7,85	44,67±1,45	49,15±6,04	47,84±1,33
%	-	-6,60	+5,19	+2,17	+4,99	+2,2

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n =6 rats) ;

(* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$) vs groupe témoins.

(# $p \leq 0,05$) vs groupe traités par TEB.

➤ **Glutathion-S- transférase (GST) :**

Le traitement par le TEB a entraîné une diminution significative de l'activité de la GST dans le foie (-58,33%, $p \leq 0,05$), les reins (-38,23%, $p \leq 0,05$), les testicules (-33,33%, $p \leq 0,01$) et le cerveau (-28,57%, $p \leq 0,01$). La co-administration de HAS a augmenté significativement cette activité dans le foie (+80%, $p \leq 0,05$), les reins (+38,09%, $p \leq 0,05$), les testicules (+26,92%, $p \leq 0,05$) et le cerveau (+40%, $p \leq 0,05$). La vitamine C a également augmenté cette activité de manière significative dans le foie (+40%, $p \leq 0,05$), les testicules (+26,92%, $p \leq 0,01$) et le cerveau (+40%, $p \leq 0,05$), mais sans effet significatif dans les reins (**Tableau 15**).

Tableau 15 : Activités de la glutathion-S-transférase (GST) (nmol /min/mg de protéine) dans le foie, les reins, les testicules et le cerveau chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines du traitement.

Organes étudiés	Groupes expérimentaux					
	T	TEB	TEB+HAS	TEB+Vit C	HAS	Vit C
Foie	0,12±0,03	0,05±0,02 ^(*)	0,09±0,01 ^(#)	0,07±0,01 ^(#)	0,1±0,01	0,061±0,01
%	-	-58,33	+80	+40	-16,66	-49,16
Reins	0,034±0,005	0,021±0,006 ^(*)	0,029±0,007 ^(#)	0,027±0,01	0,03±0,007	0,03±0,002
%	-	-38,23	+38,09	+28,57	-11,76	-11,76
Testicules	0,039±0,006	0,026±0,004 ^(**)	0,033±0,005 ^(#)	0,033±0,003 ^{(*)(##)}	0,036±0,005	0,037±0,005
%	-	-33,33	+26,92	+26,92	-7,69	-5,12
Cerveau	0,014±0,002	0,01±0,002 ^(**)	0,014±0,003 ^(#)	0,014±0,003 ^(#)	0,014±0,004	0,014±0,004
%	-	-28,57	+40	+40	00	00

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne ± SEM (n =6 rats) ;

(* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$) vs groupe témoins.

(# $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,01$) vs groupe traités par TEB.

10.7. Effet sur l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) :

Le traitement par le TEB a entraîné une diminution significative de l'activité de l'AChE dans le cerveau (-17,99%, $p \leq 0,05$). La co-administration de vitamine C a augmenté significativement cette activité (+17,48%, $p \leq 0,05$) par rapport au groupe traité par le TEB. La combinaison TEB+HAS n'a pas montré de différence significative (**Figure 14**).

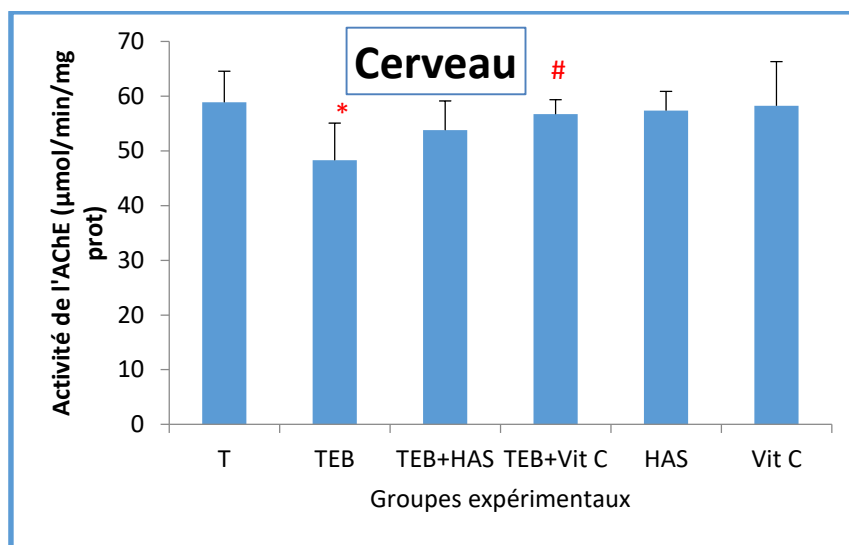


Figure 09 : Activités de l'acétylcholinestérase dans le cerveau chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines du traitement.

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n =6 rats) ;

(* $p \leq 0,05$) vs groupe témoin.

(# $p \leq 0,05$) vs groupe traités par TEB.

10.8. Effet sur le taux de l'oxyde nitrique (NO) :

Le traitement par le TEB a entraîné une augmentation hautement significative de la concentration plasmatique en NO (+75,23%, $p \leq 0,01$). La co-administration de HAS ou de la vitamine C a significativement diminué la teneur en NO (-17,39% pour TEB+HAS, $p \leq 0,01$ et -9,78% pour TEB+Vit C, $p \leq 0,01$) par rapport au groupe traité par le TEB seul (**Figure 15**).

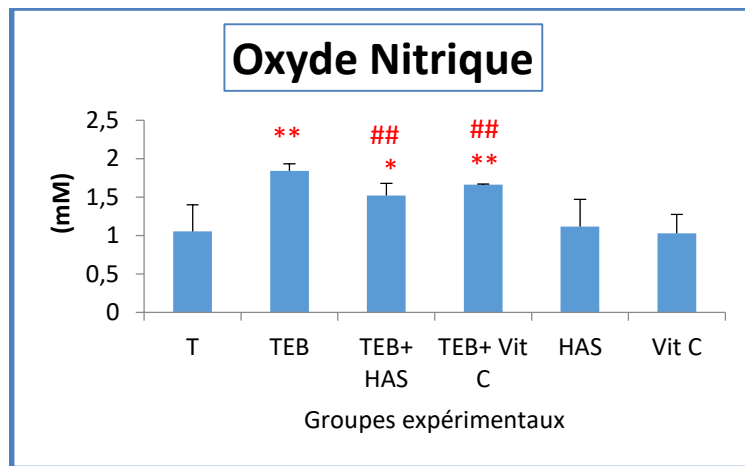


Figure 10 : Variation des taux de NO dans le plasma chez les rats témoins et les rats traités après 4 semaines du traitement.

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM (n =6 rats) ;
(* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$) vs groupe témoin.
(## $p \leq 0,01$) vs groupe traités par TEB.

11. Etude histologique :

L'observation des coupes histologiques du foie a montré une structure cellulaire normale dans le foie des rats témoins. Cependant, le traitement des rats par le TEB à 100 mg/kg de poids corporel pendant 28 jours a provoqué des changements histologiques en causant des lésions hépatiques graves telles que la congestion vasculaire (cercle) et l'infiltration de cellules inflammatoires (flèche). En revanche, l'administration d'HAS et de la Vit C a révélé une réduction de l'infiltration cellulaire inflammatoire (flèche) et la morphologie des cellules normales par rapport aux groupes TEB (**Figure 16**).

L'observation microscopique des coupes histologiques rénales des rats révèle une structure normale des reins chez les témoins (**Figure 17**). L'aspect histologique des reins est normal chez les rats traités par l'HAS seul et par la Vit C seul. L'exposition des rats au TEB a provoqué une dilatation tubulaire (flèche) et des dégénérescences des glomérules rénaux (cercle)

Par ailleurs, on note des améliorations au niveau de l'histoarchitecture des reins chez les rats traités par la combinaison TEB plus HAS et TEB plus Vit C comparativement au rats recevant le TEB

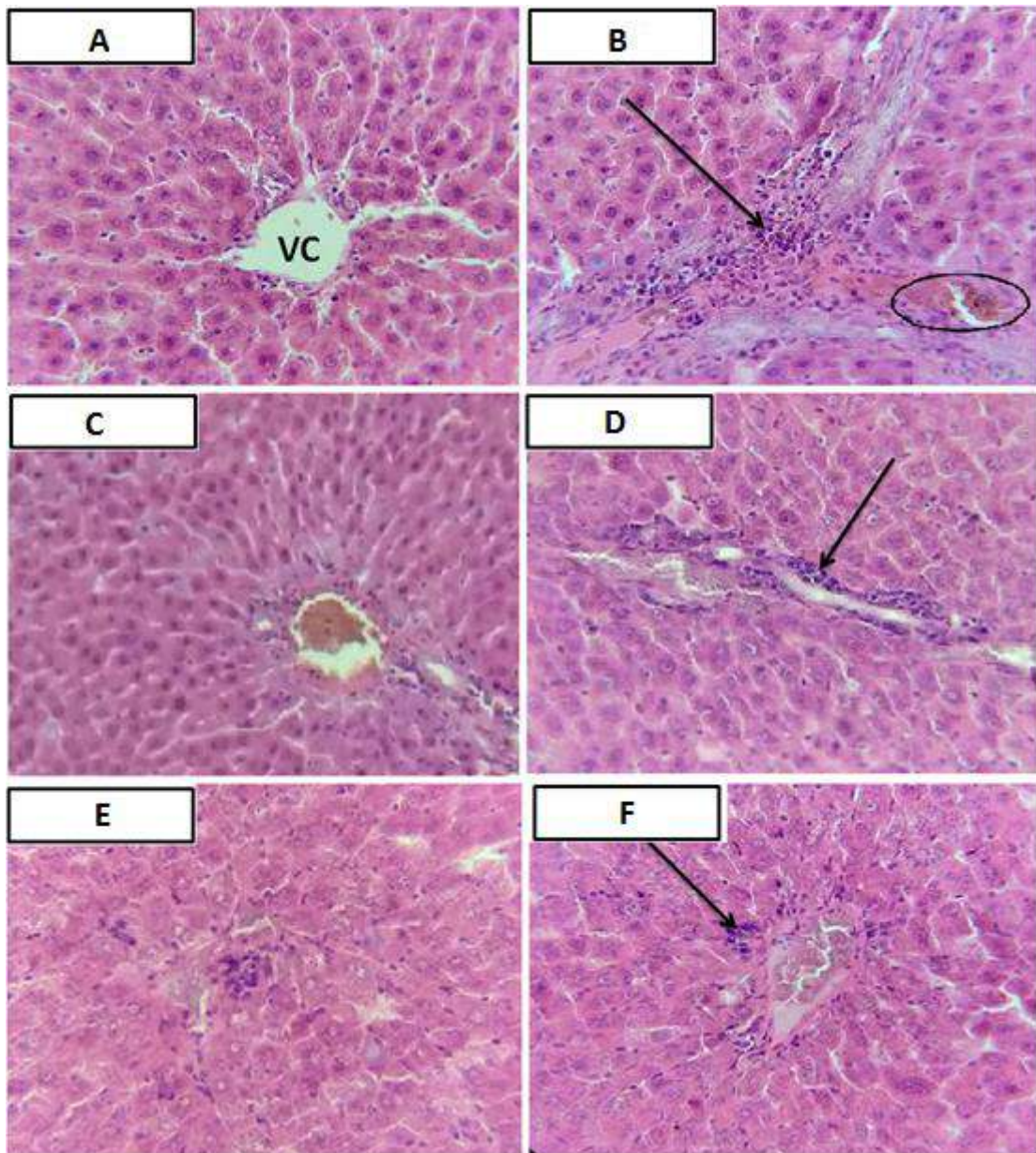


Figure 11 : Coupes histologiques du foie chez les rats témoins et les rats traités colorées Hématoxyline-Eosine et observées au microscope optique. Grossissement $\times 400$. (A) groupe contrôle, (B) groupe traité par le TEB, (C) groupe traité par l'HAS, (D) groupe traité par le TEB+ HAS. (E) groupe traité par la VIT C, (D) groupe traité par le TEB+ VIT C après 4 semaines de traitement.

Flèche : une infiltration cellulaire inflammatoire

Cercle : une congestion vasculaire

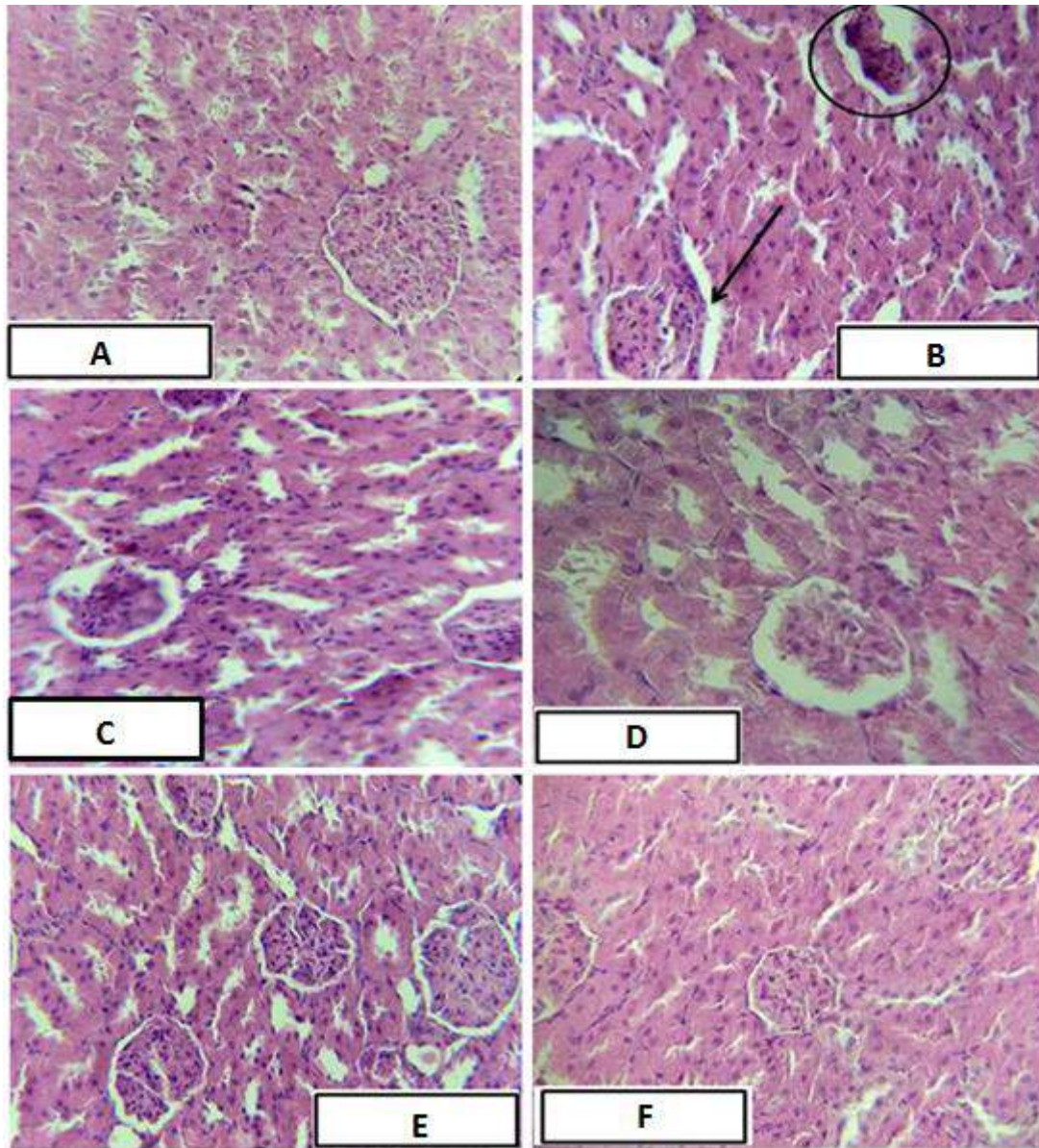


Figure 12 : Coupes histologiques des reins chez les rats témoins et les rats traités colorées à Hématoxyline-Eosine et observées au microscope optique. Grossissement $\times 400$. (A) groupe contrôle, (B) groupe traité par le TEB, (C) groupe traité par l'HAS, (D) groupe traité par le TEB+ HAS. (E) groupe traité par la VIT C, (D) groupe traité par le TEB+ VIT C après 4 semaines de traitement.

Flèche : une dilatation tubulaire

Cercle : une dégénérescence des glomérules rénaux

CHAPITRE III : **DISCUSSION**

Chapitre III : Discussion

Les plantes jouent un rôle central dans la pharmacopée moderne et l'évolution de la chimie pharmaceutique. Selon les recherches récentes, les analyses phytochimiques des extraits végétaux sont cruciales, car elles permettent d'identifier les composés actifs ayant des propriétés physiologiques et thérapeutiques reconnues. Ces investigations scientifiques ouvrent également la voie à la découverte de nouvelles molécules bioactives, dévoilant des métabolites secondaires aux effets médicaux potentiels. Ces découvertes facilitent ainsi le développement de médicaments innovants et de traitements adaptés aux besoins actuels (**Alami et al., 2022**).

Dans ce contexte, les plantes médicinales dotées de propriétés antioxydantes se démarquent particulièrement comme des sources prometteuses pour le traitement des maladies associées aux espèces réactives de l'oxygène (ERO) et aux espèces réactives de l'azote (ERA) (**Ashraf et al., 2024**). Cette perspective est soutenue par des études récentes qui ont mis en évidence la capacité significative de nombreux extraits végétaux à neutraliser ces espèces réactives. Ces résultats suggèrent que les extraits pourraient offrir des stratégies thérapeutiques efficaces contre les pathologies liées au stress oxydatif et à l'inflammation chronique (**Shahrajabian et Sun, 2023 ; Muscolo et al., 2024**).

Un aspect clé de cette activité thérapeutique réside dans les métabolites secondaires produits par les plantes, parmi lesquels les composés phénoliques jouent un rôle de premier plan (**Bhatla et Lal, 2023**). Ces composés, incluant les phénols, les flavonoïdes et les tanins, sont particulièrement remarquables pour leurs propriétés antioxydantes. Des études récentes ont montré que ces métabolites, notamment les flavonoïdes, neutralisent efficacement les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène en transférant des atomes d'hydrogène via leurs groupements hydroxyles. Cette activité scavenger en fait des défenseurs naturels puissants contre les radicaux libres (**Mutha et al., 2021 ; Shi et al., 2022**). Omniprésents dans le règne végétal, ces composés soulignent à la fois leur rôle dans les mécanismes de défense des plantes et leur potentiel en tant qu'agents thérapeutiques naturels.

Au-delà de leurs propriétés antioxydantes, les composés phénoliques se distinguent par une gamme impressionnante de bienfaits médicinaux. Les recherches récentes ont révélé qu'ils possèdent des effets anti-apoptotiques (**Soltani et al., 2023**), anti-âge (**del Carmen et al., 2023**), anti-cancéreux (**Arslan et al., 2023**), anti-inflammatoires (**Liu et al., 2023**) et anti-athérosclérotiques (**Ziólkiewicz et al., 2023**). De surcroît, ils contribuent à la protection cardiovasculaire et à l'amélioration de la fonction endothéliale (**Torres-Fuentes et al., 2022**). Leur rôle dans l'inhibition de l'angiogenèse et la régulation de la prolifération cellulaire

(Oršolić et Jazvinščak Jembrek, 2022) renforce davantage leur intérêt. Enfin, leur capacité à neutraliser les radicaux libres confirme leur potentiel thérapeutique pour prévenir et traiter diverses pathologies.

Les substances phytochimiques suscitent un intérêt croissant en raison de leurs nombreuses activités biologiques et de leurs effets bénéfiques sur la santé. Dans ce contexte, notre étude a visé à explorer le potentiel phytochimique de l'huile d'*Allium sativum* (HAS). Une analyse phytochimique préliminaire in vitro a été réalisée pour évaluer sa concentration en composés phénoliques et sa capacité antioxydante. Pour renforcer la fiabilité de nos résultats, nous avons utilisé trois méthodes complémentaires : le piégeage du radical libre DPPH, la méthode TEAC (radicaux ABTS) et la détermination de la capacité antioxydante totale (CAT).

Les résultats de cette analyse ont révélé que l'huile d'*Allium sativum* est particulièrement riche en composés bioactifs, tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes et les tanins. Ces métabolites secondaires, connus pour leurs propriétés pharmacologiques, sont étroitement liés au potentiel thérapeutique élevé de l'HAS. En effet, leurs propriétés antioxydantes et leurs effets synergiques renforcent son efficacité pour combattre le stress oxydatif (Bazaraliyeva et al., 2022).

Parmi les méthodes d'évaluation utilisées, le test DPPH est largement reconnu pour mesurer l'activité antiradicalaire des antioxydants. Grâce à cette méthode, nous avons pu quantifier le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, un indicateur clé du potentiel antiradicalaire de l'HAS (Asqarov, 2024). Ces résultats confirment que les propriétés protectrices de l'HAS peuvent être attribuées à ses capacités antioxydantes et anti-radicalaires, renforçant son efficacité dans la neutralisation des espèces réactives et la réduction du stress oxydatif (Chahbani et al., 2024).

En parallèle de ces recherches sur les propriétés phytochimiques, nous avons également étudié les effets des pesticides sur le métabolisme, notamment en ce qui concerne le poids corporel. La perte de poids est un phénomène multifactoriel influencé par des facteurs tels que le stress oxydatif, les déséquilibres hormonaux, les modifications du métabolisme et les comportements alimentaires. L'administration de pesticides, comme le TEB, a montré une influence significative sur divers paramètres biochimiques, tels que les niveaux de glucose sanguin, l'insuline sérique, la leptine et les profils lipidiques.

Notre étude a révélé que l'exposition au TEB entraîne une diminution du poids corporel chez les rats, ce phénomène étant attribué à plusieurs mécanismes complexes. Les pesticides, en induisant un stress oxydatif, perturbent le métabolisme normal et contribuent à la perte de

poids (**Semren et al., 2018**). Par ailleurs, certains pesticides agissent comme perturbateurs endocriniens, modifiant les niveaux hormonaux, notamment les hormones thyroïdiennes et l'insuline, ce qui influence la régulation de l'appétit et du métabolisme énergétique (**Ramakrishna et al., 2022**). Ces perturbations s'étendent également au microbiote intestinal, dont l'altération joue un rôle crucial dans la gestion du métabolisme et du poids, comme l'ont démontré **Meng et al., (2020)**. Enfin, **Gutgesell et al., (2020)** ont observé que certains pesticides peuvent affecter directement les adipocytes et les marqueurs métaboliques, réduisant l'accumulation de graisse corporelle et favorisant la perte de poids, notamment avec des insecticides tels que la perméthrine.

L'exposition des rats au tébuconazole (TEB) a été associée à une augmentation significative du poids relatif de plusieurs organes, notamment le foie, les reins, le cerveau et les testicules. Ce phénomène peut être attribué à des mécanismes tels que l'hypertrophie tissulaire et l'accumulation de substances toxiques dans ces organes cibles, comme cela a été rapporté par **Dhouib, (2015)** et **Chakroun et al., (2016)**. En appui à ces observations, **Alarcan et al., (2020)** ont également montré que l'exposition à divers pesticides, tels que l'imazalil, le thiaclopride et la clothianidine, induit une hypertrophie hépatique marquée, indiquant une réponse adaptative à la toxicité. Par ailleurs, **Dinca et al., (2023)** ont révélé que l'accumulation de résidus de pesticides dans les reins entraîne une augmentation du poids relatif, suggérant des effets néfastes sur la fonction rénale.

Face à ces effets délétères, l'administration d'huile d'*Allium sativum* (HAS) et de vitamine C a montré des résultats prometteurs. Ces substances ont non seulement amélioré la consommation alimentaire et hydrique des rats, mais ont également favorisé une augmentation du poids corporel et une diminution des poids relatifs des organes. Ces bienfaits sont probablement liés aux propriétés protectrices et antioxydantes de l'HAS et de la vitamine C, qui limitent l'accumulation de substances toxiques dans les organes (**Kovarovič et al., 2019 ; Doseděl et al., 2021**).

En complément de ces analyses, l'étude des paramètres hématologiques et biochimiques sanguins constitue un outil essentiel pour évaluer l'impact des substances toxiques. Ces analyses offrent un aperçu des perturbations du milieu intérieur et permettent de comprendre les mécanismes physiopathologiques induits par les xénobiotiques (**Ogundiran, 2018**). Parmi ces paramètres, les variations du nombre de globules blancs sont particulièrement significatives

pour détecter une réponse inflammatoire, fréquemment observée lors de nécrose tissulaire (Meligi et al., 2017).

Dans notre étude, l'exposition au TEB a entraîné une leucocytose marquée, reflétant une activation immunitaire face à cette substance toxique (Salihu et al., 2016). Cependant, les paramètres plaquettaires n'ont pas été significativement affectés. Il est intéressant de noter que l'association de l'HAS ou de la vitamine C au TEB a atténué ces effets hématologiques indésirables, confirmant leurs propriétés protectrices (Saoudi et al., 2011 ; Hassouna et al., 2015).

Le foie, en tant qu'organe principal de détoxification, joue un rôle central dans le métabolisme et l'élimination des pesticides. Toutefois, lorsque la charge toxique dépasse les capacités du foie, des dommages hépatiques peuvent survenir (Zhao et al., 2019). Les enzymes hépatiques, telles que les transaminases (ASAT, ALAT), la phosphatase alcaline (PAL) et la lactate déshydrogénase (LDH), constituent des biomarqueurs sensibles pour détecter ces atteintes. Une élévation de leurs niveaux plasmatiques signale souvent une nécrose hépatique ou une altération membranaire des hépatocytes (Suhartini et al., 2019 ; Huang et al., 2022).

Nos résultats confirment ces observations : l'exposition au TEB a induit une augmentation significative des activités plasmatiques des transaminases, PAL, LDH et GGT, témoignant d'une atteinte hépatique sévère. Cette libération enzymatique est directement liée à des lésions hépatocytaires causées par la toxicité du TEB, comme en témoigne l'altération de la perméabilité membranaire des cellules et la nécrose qui s'ensuit. Ces conclusions corroborent les travaux de Gök et Deveci, (2022), qui ont également documenté des effets similaires du TEB sur la fonction hépatique.

Nos résultats s'alignent sur les conclusions de précédentes études ayant exploré l'impact hépatotoxique de divers pesticides. Par exemple, Refaie et al., (2020) ont démontré que le butralin et d'autres herbicides provoquent une augmentation des transaminases, indiquant des dommages cellulaires et une altération de la perméabilité membranaire des hépatocytes. De manière similaire, Rieg et al., (2022) ont établi un lien entre l'élévation des aminotransaminases et les perturbations métaboliques liées à l'exposition au glyphosate.

Dans notre étude, l'administration de l'huile d'*Allium sativum* et de vitamine C a permis d'atténuer significativement l'augmentation des activités enzymatiques plasmatiques induite par le TEB. Ces données suggèrent un effet protecteur de ces antioxydants, probablement

attribuable à leurs propriétés bien documentées dans la neutralisation des radicaux libres et la protection des membranes cellulaires (**Idoko et al., 2022 ; Al Garea et al., 2023**).

En parallèle, nos observations ont également mis en évidence des modifications du métabolisme lipidique, qui joue un rôle essentiel dans la régulation énergétique et la structure cellulaire. Le cholestérol, produit principalement par le foie, est crucial pour de nombreux processus métaboliques, mais une élévation de son taux peut indiquer des troubles hépatiques (**Farag et Kotb, 2017**). Chez les rats traités au TEB, nous avons noté une hypercholestérolémie, suggérant une altération de la fonction hépatique, probablement due à des perturbations des voies métaboliques du cholestérol causées par le pesticide (**Ismail, 2013**). Ces résultats concordent avec les travaux de **Rai et al., (2009)**, qui ont lié une élévation du cholestérol à une stimulation de la lipolyse et à une production accrue d'acides gras.

Cependant, contrairement à cette hypercholestérolémie, une diminution des triglycérides plasmatiques a été observée, indiquant une perturbation du métabolisme des acides gras. Ce phénomène pourrait être associé à un stress oxydatif induit par le TEB, conduisant à une peroxydation lipidique, comme cela a également été rapporté par **Shalaby et al., (2010)** chez des rats traités au thiaméthoxam.

Le foie étant également responsable de la synthèse des protéines plasmatiques, notamment l'albumine, une atteinte hépatique peut entraîner des variations significatives des taux de protéines totales et du rapport albumine/globulines (A/G). Nos résultats ont montré une diminution notable de ces paramètres chez les rats exposés au TEB, corroborant les observations de **Zhang et al., (2017)** après exposition au phoxim. Cette diminution pourrait résulter de plusieurs mécanismes, notamment une altération de la synthèse protéique ou une augmentation de la dégradation due au stress oxydatif (**Ujowundu et al., 2018**).

Enfin, en ce qui concerne le métabolisme glucidique, nous avons constaté une hyperglycémie significative chez les rats traités au TEB. Ces résultats s'accordent avec ceux de **Li et al., (2023)**, qui ont mis en évidence une augmentation des niveaux de glucose chez des rats exposés à des pesticides organophosphorés. Cette hyperglycémie pourrait être liée à une résistance à l'insuline, compromettant l'utilisation efficace du glucose par les cellules, comme le suggèrent les travaux de **Seesen et al., (2022)**.

Toutefois, l'administration de l'HAS et de la vitamine C a montré un effet protecteur notable, en normalisant les paramètres biochimiques altérés, notamment les niveaux de cholestérol, de triglycérides, de protéines totales, d'albumine et de glucose. Ces propriétés protectrices peuvent être attribuées aux puissantes actions antioxydantes de ces substances, comme cela a été rapporté dans des études récentes. Par exemple, **Ncir et al., (2020)** ont

démontré les effets bénéfiques de l'HAS contre les lésions hépatiques induites par des pesticides tels que la deltaméthrine, tandis que **Saoudi et al., (2011)** ont souligné l'efficacité de la vitamine C contre les dommages oxydatifs.

Les reins jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie corporelle, en régulant notamment l'équilibre hydrique, électrolytique et acido-basique (**Gantsova et al., 2024**). En filtrant les déchets métaboliques tels que l'urée et la créatinine, ils permettent leur excrétion dans l'urine (**Beena, 2023**). Cependant, une altération de la fonction rénale, souvent causée par l'exposition à des toxines, peut entraîner une accumulation de ces substances dans le sang. Dans notre étude, l'exposition des rats au TEB a entraîné une élévation marquée des niveaux d'urée et de créatinine, reflétant une dégradation de la fonction rénale. Ces résultats concordent avec ceux de **Kovalčíková et al., (2020)** et **Atere et al., (2021)**, qui ont également rapporté des effets néfastes similaires après exposition à des pesticides.

De manière comparable, **Derouiche et al., (2019)** ont observé une accumulation de ces biomarqueurs rénaux suite à une administration orale de métribuzine chez des rats mâles Wistar, tandis que **Farag et Kotb, (2017)** ont décrit des résultats analogues chez des rats intoxiqués au mancozèbe. En outre, les travaux d'**Ileriturk et Kandemir, (2023)** suggèrent que l'augmentation des niveaux d'urée et de créatinine observée après exposition à la cyhalothrine, un insecticide, pourrait être liée à des dommages rénaux accompagnés d'une inflammation. Ces lésions compromettent la capacité des reins à filtrer efficacement les déchets métaboliques, accentuant ainsi l'accumulation de ces substances dans le sang.

Cependant, nos résultats montrent que l'administration d'huile d'*Allium sativum* (HAS) et de vitamine C a significativement amélioré les paramètres rénaux. Ces substances ont réduit les niveaux d'urée et de créatinine, probablement grâce à leurs propriétés antioxydantes, qui protègent les cellules rénales contre les effets délétères du TEB. En neutralisant les radicaux libres, l'HAS et la vitamine C contribuent à préserver la fonction rénale et à atténuer les effets des espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans les tubules proximaux. Ces observations s'accordent avec celles d'études antérieures, telles qu'**Elbeltagy et al., (2022)** et **Chandra et Nagar, (2023)**, qui ont souligné les bienfaits de l'HAS et de la vitamine C pour la santé rénale.

Par ailleurs, la peroxydation lipidique constitue une conséquence majeure du stress oxydatif, caractérisée par l'oxydation des acides gras polyinsaturés des membranes biologiques. Ce processus altère la fluidité membranaire et inactive certaines enzymes, provoquant des dommages cellulaires graves (**Şahin et al., 2024**). En générant un excès d'espèces réactives de

l'oxygène, le stress oxydatif perturbe l'équilibre redox cellulaire, initiant une cascade de réactions en chaîne aboutissant à la formation de produits toxiques, comme le malondialdéhyde (MDA) (Negre-Salvayre et al., 2022).

Notre étude a révélé une augmentation significative des niveaux de MDA dans les organes des rats exposés au TEB, indiquant une peroxydation lipidique accrue. Cette hausse pourrait être liée à la capacité du TEB à stimuler la production d'ERO, qui réagissent avec les acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires. Cette interaction déclenche une réaction en chaîne, générant des dommages oxydatifs étendus et amplifiant la toxicité du pesticide (Messina et al., 2023). Ces résultats corroborent les travaux de Ben Saad et al., (2021), qui ont montré que le TEB inhibe les aldéhydes déshydrogénases mitochondriales (ALDH2 et ALDH5A), essentielles à la détoxification des produits finaux de la peroxydation lipidique. Cette inhibition aggrave le stress oxydatif, exacerbant les dommages cellulaires induits par le fongicide.

De plus, le stress oxydatif induit une oxydation des protéines, caractérisée par la formation d'AOPP. Les produits de la peroxydation lipidique, comme le 4-hydroxynonanal, peuvent se lier aux protéines, altérant ainsi leur conformation et leur fonction (Levin, 2002). L'oxydation de la cystéine, bien que potentiellement réversible, peut induire des altérations profondes des protéines, compromettant ainsi leurs fonctions biologiques (Delattre et al., 2005). Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) peuvent oxyder directement les résidus cystéine, mais également d'autres acides aminés, entraînant la formation de produits d'oxydation des protéines (PCO). Ces modifications chimiques, notamment la formation de ponts disulfure anormaux ou l'oxydation d'acides aminés clés dans les sites actifs enzymatiques, peuvent altérer la structure et la fonction des protéines. Les PCO, en tant que marqueurs relativement stables, reflètent l'exposition chronique au stress oxydatif et peuvent ainsi servir d'indicateurs précoces de dommages oxydatifs protéiques. Leur accumulation à long terme contribue à la perte progressive de la fonction cellulaire (Garg et al., 2017).

Nos résultats démontrent que l'exposition au TEB induit un stress oxydatif sévère chez le rat, caractérisé par une augmentation significative des PCO et des AOPP. Ces données suggèrent que le TEB est capable d'engendrer des radicaux libres qui altèrent l'intégrité des membranes cellulaires en oxydant les lipides et les protéines. En effet, de nombreuses études expérimentales convergent vers une même conclusion : l'exposition à divers pesticides, dont le tébuconazole, induit une augmentation significative des PCO et des AOPP au niveau de organes

cibles tels que le foie et les reins chez les rongeurs (**Ben saad ^a et al., 2017 ; Ben saad ^b et al., 2017**), penconazole (**Chaabane et al., 2017**), deltaméthrine (**Ncir et al., 2020**).

Les résultats de notre étude démontrent que l'HAS et la vitamine C exercent un effet protecteur significatif contre la toxicité induite par le tébuconazole. En effet, la co-administration de ces composés a permis de réduire de manière significative les marqueurs de peroxydation lipidique (MDA) et d'oxydation protéique (AOPP et PCO). Ces données suggèrent que les polyphénols et les flavonoïdes présents dans HAS pourraient être responsables de cette activité antioxydante, en agissant comme de puissants capteurs de radicaux libres. Ces résultats soulignent l'intérêt thérapeutique potentiel de composés naturels pour prévenir et atténuer les effets délétères des pesticides (**Leopoldini et al., 2011**).

De plus, de nombreuses études convergent vers l'idée que les plantes riches en polyphénols et en flavonoïdes, exercent une activité antioxydante en modulant la production de radicaux libres et en inhibant la peroxydation lipidique. En effet, Les résultats de notre étude sont en accord avec de nombreuses recherches antérieures qui ont mis en évidence le potentiel antioxydant de l'*Allium sativum* et de la vitamine C. Ces composés naturels agissent en inhibant l'initiation et la propagation des réactions d'oxydation lipidique, ainsi qu'en régénérant d'autres antioxydants. Nos données confirment l'efficacité de ces molécules dans la protection contre les dommages oxydatifs induits par les pesticides : thiodicarb (**Shinnawy, 2008**), chlorpyrifos (**El-Gendy et al., 2010**), diazinon (**Hassouna et al., 2015**) et le deltaméthrin (**Ncir et al., 2020**).

Nos données révèlent une diminution significative de l'activité des enzymes antioxydantes dans les tissus de rats exposés au tébuconazole, suggérant une perturbation du système de défense antioxydant et une intensification du stress oxydatif. Ce déséquilibre peut entraîner une cascade de réactions oxydatives, conduisant à des dommages aux biomolécules et à une altération des fonctions cellulaires (**Adwas et al., 2019 ; Afzal et al., 2023**). Ainsi, En tant que premières enzymes impliquées dans la défense antioxydante, les SOD catalysent la transformation des radicaux superoxydes en peroxyde d'hydrogène. Ce dernier est ensuite éliminé par la catalase (CAT) et la GPx. Ainsi, ces trois enzymes agissent en synergie pour maintenir l'équilibre redox cellulaire (**Karmakar et al., 2022 ; Saxena et al., 2022**). Cependant, un stress oxydant intense peut saturer ces systèmes enzymatiques, comme en témoigne la diminution significative de leur activité observée dans nos expériences sur des rats traités au tébuconazole.

En fait, la diminution de l'activité du SOD entraîne une accumulation de radicaux superoxydes dans la cellule. Cette surcharge en radicaux libres peut inhiber l'activité des autres

enzymes antioxydantes, telles que la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx), créant ainsi un cercle vicieux qui amplifie le stress oxydant (**Koregol et al., 2017**). Nos résultats montrent une diminution significative de l'activité de la GPx et de la catalase chez les rats traités au tébuconazole (TEB). Cette baisse d'activité est principalement attribuable à la surproduction de peroxyde d'hydrogène induite par le fongicide (**Atere et Osadolor, 2017; Zulaikhah, 2017**), épuisant ainsi les cofacteurs essentiels au fonctionnement de ces enzymes, tels que le glutathion réduit et le NADPH. Cette diminution de l'activité des enzymes antioxydantes contribue à l'amplification du stress oxydant et pourrait expliquer les dommages observés au niveau des tissus.

Ainsi, les résultats obtenus suggèrent que le tébuconazole a perturbé les mécanismes de détoxification cellulaire. En effet, nous avons observé une diminution significative de l'activité des GST dans tous les tissus étudiés. Ces enzymes impliquées dans les processus de la détoxification (**Feng et al., 2023**). De plus, les GST jouent un rôle crucial dans la réponse au stress oxydant en catalysant la conjugaison du glutathion (GSH) avec les produits de peroxydation lipidique. Cette réaction est essentielle pour neutraliser ces composés hautement réactifs et prévenir les dommages cellulaires (**Nwoguzie et al., 2021**). Dans la présente étude, une diminution significative de l'activité des GST observée dans tous les organes étudiés chez les rats traités au tébuconazole suggère une altération des mécanismes de détoxification cellulaire. Ce déficit enzymatique contribue à l'augmentation du stress oxydant et favorise la peroxydation lipidique, comme en témoigne l'élévation des niveaux de malondialdéhyde (MDA) (**Someya et Kim, 2021**).

Nos résultats révèlent que l'exposition au tébuconazole entraîne une perturbation notable du système de défense antioxydant, se manifestant par une baisse de l'activité des enzymes SOD, CAT, GPx et GST dans les tissus analysés. Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus lors d'études précédentes d'**Apaydin et al., (2016)** sur les effets du bendiocarb, un pesticide administré à une dose de 0.8 mg/kg pendant 28 jours.

Nos résultats démontrent que l'administration d'huile d'HAS a permis de contrecarrer les effets délétères du tébuconazole sur le système antioxydant. En effet, l'ail a significativement préservé l'activité des enzymes clés de la défense antioxydante, telles que la SOD, la CAT, la GPx et la GST. Cette action protectrice peut être attribuée à la richesse de l'ail en composés bioactifs, notamment les polyphénols et les flavonoïdes, qui agissent comme de puissants antioxydants. Ces molécules possèdent la capacité de neutraliser les ERO produites par le stress oxydatif induit par le pesticide, réduisant ainsi les lésions oxydatives infligées aux biomolécules (**Mukthamba et Srinivasan, 2016**). Par ailleurs, l'HAS semble stimuler la synthèse de ces

enzymes antioxydantes, renforçant ainsi les défenses endogènes de l'organisme. Ce mécanisme de compensation permet de maintenir l'homéostasie redox cellulaire et de protéger les cellules contre les agressions oxydatives. Les résultats de cette étude suggèrent que l'*Allium sativum* pourrait constituer une stratégie prometteuse pour atténuer les effets néfastes des pesticides (Najman et al., 2020 ; Abbas et al., 2022).

De plus, Les résultats obtenus suggèrent que l'administration de vitamine C atténue significativement les effets délétères du tébuconazole sur le système antioxydant. Ces résultats vont dans le même sens que celui d'Apaydin et al., (2016). En effet, la vitamine C, en tant qu'antioxydant puissant, a permis de restaurer l'activité des enzymes antioxydantes, perturbée par l'exposition au pesticide. Cette complémentation a permis de préserver l'équilibre redox cellulaire et de limiter les dommages oxydatifs tissulaires. Ces résultats confirment l'efficacité des antioxydants exogènes dans la prévention des pathologies liées au stress oxydatif, comme le suggèrent de nombreuses études.

Par conséquent, le glutathion, tripeptide ubiquitaire dans les cellules, joue un rôle central dans le maintien de l'homéostasie redox. En tant qu'antioxydant non enzymatique, il agit comme un véritable bouclier moléculaire en captant les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et en les neutralisant. Sous sa forme réduite (GSH), il constitue un réservoir d'électrons, prêt à être mobilisé pour réduire les molécules oxydées et protéger les biomolécules essentielles (protéines, lipides, ADN) contre les dommages oxydatifs. (Margaritelis et al., 2021).

Cependant, les résultats de cette étude révèlent une diminution significative des niveaux de GSH dans les organes de rats traités au tébuconazole. Cette baisse de GSH peut être expliquée par une augmentation de sa consommation pour faire face au stress oxydatif induit par le pesticide. En effet, la GPx, enzyme qui utilise le GSH pour réduire le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), est fortement sollicitée dans ce contexte (Lafi et al., 2017). L'épuisement du GSH confirme l'intensité du stress oxydatif provoqué par le tébuconazole, perturbant ainsi l'équilibre redox cellulaire (Ro et al., 2023 ; Ozturk Kurt et Ozdemir, 2023 ; Aicha et al., 2024).

En outre, l'épuisement des réserves en glutathion réduit (GSH), observé chez les rats exposés au tébuconazole, est étroitement lié à l'augmentation de la peroxydation lipidique (LPO). En effet, le GSH, puissant antioxydant, joue un rôle crucial dans la prévention de la LPO en neutralisant les radicaux libres lipidiques. Sa diminution entraîne une désinhibition de la réaction en chaîne de peroxydation, amplifiant ainsi les dommages oxydatifs aux membranes cellulaires (Angelova et al., 2021). De plus, le GSH est un cofacteur essentiel des GST, enzymes impliquées dans la détoxification des xénobiotiques, dont le tébuconazole. La

conjugaison du GSH avec ce pesticide contribue à l'épuisement de ses réserves et limite ainsi sa disponibilité pour d'autres réactions de détoxification. Ces résultats confirment que la diminution du GSH est un biomarqueur fiable du stress oxydatif induit par les pesticides (**Sule et al., 2022**).

La vitamine C, puissant antioxydant hydrosoluble, joue un rôle dans la défense antioxydante en neutralisant un large spectre d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote. En agissant tant au niveau intracellulaire qu'extracellulaire, elle contribue à protéger les molécules biologiques (ADN, protéines, lipides) des dommages oxydatifs (**Hassan et Khedr, 2021**).

L'analyse des résultats a révélé une diminution significative des niveaux de vitamine C chez les rats exposés au tébuconazole. Cette diminution est attribuable au stress oxydant provoqué par ce fongicide, qui consomme la vitamine C pour neutraliser les radicaux libres. Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Ben amara et al., (2017)**, montrant une diminution significative des niveaux de vitamine C dans les tissus hépatiques et les tissus rénaux des rats exposés au méthyl thiophanate (fongicide). Cette diminution de la vitamine C peut être attribuée à une augmentation du stress oxydatif induit par les pesticides, qui peut entraîner une oxydation accrue de la vitamine C et une diminution de sa biodisponibilité.

L'exposition au tébuconazole perturbe l'équilibre redox cellulaire en inhibant les systèmes enzymatiques antioxydants et en stimulant la production d'espèces réactives de l'oxygène. Ce déséquilibre exacerbe le stress oxydatif, conduisant à une cascade de réactions délétères pour les biomolécules. Face à cette agression, l'organisme tente de compenser en activant ses propres mécanismes de défense. Cependant, lorsque l'intensité du stress oxydatif dépasse les capacités de ces systèmes, les dommages s'accumulent, compromettant ainsi l'intégrité cellulaire. Les résultats obtenus montrent que l'administration d'HAS et de vitamine C conduit à une augmentation significative des niveaux de glutathion et de vitamine C, témoignant de leur effet protecteur contre la toxicité induite par le tébuconazole. Ces molécules antioxydantes exercent leur action en neutralisant les radicaux libres produits en excès par ce fongicide. De plus, elles contribuent à renforcer les défenses antioxydantes endogènes en régénérant d'autres antioxydants et en favorisant la réparation des dommages oxydatifs. Ces résultats suggèrent que l'HAS et la vitamine C pourraient être utilisés comme agents thérapeutiques ou préventifs pour lutter contre les effets néfastes des pesticides (**Dorrigiv et al., 2020 ; Robea et al., 2020**).

L'exposition aux pesticides, tels que le tébuconazole (TEB), entraîne une inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE) chez les organismes exposés, qu'ils soient cibles ou non. Cette inhibition enzymatique provoque une accumulation d'acétylcholine au niveau des synapses, perturbant ainsi la transmission neuromusculaire (**Brkić et al., 2008 ; Derbalah, 2009**). Nos résultats ont montré une diminution significative de l'activité de l'AChE cérébrale chez les rats traités par le TEB, confirmant les données de la littérature sur les effets neurotoxiques des pesticides. Cette inhibition enzymatique, couplée à l'accumulation d'acétylcholine, conduit à une hyperstimulation des récepteurs nicotiniques et muscariniques (**Da Silva et al., 2006 ; Da Silva et al., 2008 ; Mansour et al., 2009 ; El- Fakharany et al., 2011**). Le mécanisme d'action du TEB implique probablement une interaction directe avec le site actif de l'AChE, inhibant ainsi son activité catalytique. Cette inhibition irréversible ou réversible de l'enzyme perturbe l'hydrolyse de l'acétylcholine (**Mani et al., 2017**).

L'oxyde nitrique (NO), bien que jouant un rôle essentiel dans de nombreux processus biologiques, notamment au niveau neuronal, présente une double facette. En effet, en raison de sa grande réactivité, il peut interagir avec d'autres molécules telles que l'oxygène (O₂) et le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), donnant naissance à des espèces réactives de l'azote hautement toxiques. Ces modifications moléculaires ont des conséquences néfastes pour la cellule, pouvant conduire à des dommages oxydatifs, à des dysfonctionnements cellulaires et, à terme, à la mort cellulaire (**Taleb-Senouci et al., 2009**). De plus, le NO peut réagir avec le peroxyde d'hydrogène pour former le peroxynitrite (ONOO⁻), une espèce réactive encore plus puissante, capable d'induire des dommages oxydatifs plus étendus (**Rahal et al., 2014**).

Les résultats de notre étude montrent une augmentation significative des taux plasmatiques d'oxyde nitrique (NO) chez les rats traités par le tébuconazole (TEB). Cette élévation de ce radical libre pourrait être expliquée par une augmentation du taux des radicaux libres, une inflammation chronique et une stimulation du système immunitaire (**Kurban, 2008**).

Par ailleurs, L'administration de l'HAS et de vitamine C a permis de restaurer significativement l'activité de l'AChE et de réduire les niveaux plasmatiques de NO. Ces résultats suggèrent que l'HAS et la vitamine C exercent un effet protecteur en atténuant le stress oxydatif et en modulant la réponse inflammatoire induite par le pesticide. Ces données sont en accord avec les travaux de **Ncir et al., (2020)** et de **Righi et al., (2020)**, qui ont montré l'effet protecteur d'HAS et de la vitamine C.

Afin d'approfondir notre compréhension des effets toxiques du TEB au niveau cellulaire, nous avons procédé à une analyse histologique de quelques organes. Cette approche

complémentaire vise à corroborer les résultats biochimiques obtenus précédemment et à identifier d'éventuelles altérations tissulaires induites par le TEB.

Les altérations histologiques observées au niveau du foie des rats traités au tébuconazole sont caractéristiques d'un stress oxydatif sévère, se manifestant par une congestion centrolobulaire prononcée et une infiltration des cellules inflammatoire. Ces résultats sont en accord avec les travaux d'**Alipanah et al., (2022)** qui ont démontré que le chlorpyrifos induit une peroxydation lipidique significative et une production accrue de radicaux libres, entraînant des dommages oxydatifs aux membranes cellulaires hépatiques. De plus, les lésions observées, suggèrent une altération profonde de la fonction hépatique, en cohérence avec les études de **Karaboduk et al., (2024)** qui ont rapporté des effets hépatotoxiques similaires du tébuconazole chez le rat, liés à un mécanisme impliquant le stress oxydatif et l'inflammation.

En revanche, les résultats obtenus démontrent le potentiel hépatoprotecteur de l'*Allium sativum*. En effet, l'HAS a permis de contrecarrer les effets délétères du tébuconazole sur le foie, en préservant l'intégrité des membranes cellulaires. Ce mécanisme d'action pourrait être lié à la capacité des composés phénoliques de l'HAS à neutraliser les radicaux libres et à inhiber les réactions d'oxydation lipidique, comme cela a été démontré dans de nombreuses études (**Ncir et al., 2016 ; RO et al., 2023**).

De même, l'association du tébuconazole à la vitamine C a permis de limiter significativement les lésions hépatiques induites par le fongicide. Ce résultat s'explique par le puissant pouvoir antioxydant de la vitamine C, qui a neutralisé les radicaux libres générés par le tébuconazole, réduisant ainsi les dommages oxydatifs au niveau des membranes cellulaires hépatiques. Nos résultats sont en accord avec de nombreuses études ayant démontré l'efficacité de la vitamine C dans la prévention des lésions hépatiques induites par des agents toxiques (**Tahoun et al., 2018 ; El-Sheikh et al., 2024**).

Les paramètres biochimiques sont corrélés également avec l'étude histologique rénale. En fait, l'histologie rénale des rats traités par le TEB a présenté une dilatation tubulaire et une dégénérescence de glomérule rénale. Les résultats de l'étude histologique du rein obtenus dans le présent travail sont concordés avec les rapports précédents sur la néphrotoxicité induite par le TEB.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Ben Saad^b et al., (2017)**, qui ont mis en évidence des altérations histologiques rénales significatives chez les rats exposés au

tébuconazole. Cependant, l'administration concomitante d'HAS a permis de restaurer une architecture rénale proche de la normale, suggérant un effet néphroprotecteur marqué de l'HAS. Ces résultats confirment le potentiel antioxydant de *Allium sativum* dans la prévention des lésions rénales induites par des agents toxiques (**Dorrigiv et al., 2020 ; El khasmi et Farh, 2022**).

Par ailleurs, la vitamine C a exercé un effet protecteur significatif sur les tissus rénaux en réduisant de manière significative les dommages induits par le tébuconazole. Ce résultat peut être expliqué par la capacité de la vitamine C à renforcer les mécanismes de défense antioxydants cellulaires et à stimuler les processus de réparation tissulaire (**Tahoun et al., 2018 ; Makhoul et al., 2021**).

CONCLUSION

Conclusion

Ce travail de recherche vise à étudier les différents facteurs qui induisent un état de stress oxydatif suite à l'exposition au TEB. Afin de mieux comprendre et de limiter les effets cytotoxiques et oxydatifs de cet agent polluant, nous avons exploré l'impact de l'administration de deux types d'antioxydants : un antioxydant naturel, l'huile d'*Allium sativum*, et un antioxydant synthétique, la vitamine C.

Les résultats expérimentaux ont montré que l'administration de TEB à une dose de 100 mg/kg PC par voie orale chez les rats pendant 4 semaines induit une toxicité multi-organes. Cette toxicité se manifeste par des altérations hépatiques, rénales et hématologiques, ainsi que des perturbations du métabolisme lipidique. Ces effets sont associés à un stress oxydatif sévère, qui perturbe les systèmes de détoxification de l'organisme tout en affaiblissant ses défenses antioxydantes naturelles. En outre, des observations chez les animaux traités ont révélé des changements notables, tels qu'une modification de la consommation alimentaire, une croissance ralentie et des perturbations hématologiques. Les analyses biochimiques ont confirmé ces résultats, mettant en évidence des dysfonctionnements hépatiques et rénaux, en plus d'un stress oxydatif marqué.

Cependant, l'administration d'antioxydants naturels et synthétiques a montré des effets positifs. Une amélioration significative a été observée au niveau de la croissance générale des rats, des paramètres physiologiques, ainsi que des indicateurs biochimiques hépatiques et rénaux. De plus, une réduction du stress oxydatif a été notée, suggérant que ces suppléments peuvent atténuer les effets délétères du TEB.

Dans cette optique, plusieurs perspectives s'offrent pour approfondir cette recherche. Tout d'abord, la purification et la caractérisation des composés actifs présents dans l'huile d'*Allium sativum* pourraient permettre d'identifier les mécanismes sous-jacents à son efficacité. Ensuite, prolonger la durée d'exposition permettrait d'étudier les effets à long terme du TEB, ainsi que l'apparition de pathologies chroniques. Il serait également pertinent d'étendre cette étude à d'autres espèces animales pour mieux extrapoler les résultats à l'homme. Enfin, l'impact du TEB et des antioxydants sur la fertilité masculine devrait être évalué, afin de détecter d'éventuels effets sur la reproduction.

RÉFÉRENCES

Références

- A**bbas M., Hussain T., Iqbal J., Zaman MA., Jilani K., Masood N., Nazir A. (2022). Synthesis of Silver Nanoparticle from *Allium sativum* as an Eco-Benign Agent for Biological Applications. *Polish Journal of Environmental Studies*, 31(1).
- Adwas ASI., Elsayed AE., Azab. (2019). Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *Journal of Applied. Biotechnology and Bioengineering*, 6(1), 43-47.
- Aebi H. (1984). Catalase in vitro. In *Methods in enzymology*. 105, 121-126.
- Afzal S., Abdul Manap AS., Attiq A., Albokhadaim I., Kandeel M., Alhojaily SM. (2023). From imbalance to impairment: the central role of reactive oxygen species in oxidative stress-induced disorders and therapeutic exploration. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1269581.
- Aicha BB., Gasmi S., Lakroun Z., Rouabhi R., Fetoui H., Kebieche M. (2024). Cellular and subcellular effects of chronic low-dose Lambda-cyhalothrin pesticide exposure modulated by medicinal plant methanol extract in rat. *Molecular & Cellular Biomechanics*, 21, 145-145.
- Alami MM., Ouyang Z., Zhang Y., Shu S., Yang G., Mei Z., Wang X. (2022). The current developments in medicinal plant genomics enabled the diversification of secondary metabolites' biosynthesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(24), 15932.
- Alarcan J., Waizenegger J., Solano M. D. L. M., Lichtenstein D., Luckert C., Peijnenburg A., Braeuning A. (2020). Hepatotoxicity of the pesticides imazalil, thiacloprid and clothianidin—individual and mixture effects in a 28-day study in female Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*, 140, 111306.
- Al Garea MH., Alqasoumi AA., Alqahtani SA., Hadadi AH., Emara AM. (2023). Vitamin C as a potential ameliorating agent against hepatotoxicity among alcoholic abusers. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 27(8), 3322-3335.
- Alipanah H., Kabi Doraghi H., Sayadi M., Nematollahi A., Soltani Hekmat A., Nejati R. (2022). Subacute toxicity of chlorpyrifos on histopathological damages, antioxidant activity, and pro-inflammatory cytokines in the rat model. *Environmental Toxicology*, 37(4), 880-888.
- Andrade MC. (2024). Vitamin C: Evolution, Prehistory, and History. *Journal of Food and Nutrition Research*, 12(5), 255-263.

- Angelova PR., Esteras N., Abramov AY. (2021). Mitochondria and lipid peroxidation in the mechanism of neurodegeneration: Finding ways for prevention. *Medicinal Research Reviews*, 41(2), 770-784.
- Apaydin FG., Bas H., Kalender S., Kalender Y. (2016). Bendiocarb induced histopathological and biochemical alterations in rat liver and Preventive role of vitamins C and E. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 49, 148-155.
- Arunagiri S., Parasurama DS., Selvara CI. (2024). A Review of Micropropagation of *Allium sativum* L. (Family: Alliaceae). *Micropropagation of Medicinal Plants*, 252-266.
- Asgharov I. (2024). Determination of antiradical activity of plant extracts. *Farg'ona davlat universiteti*, (2), 118-118.
- Ashraf MV., Khan S., Misri S., Gaira KS., Rawat S., Rawat B., Ahmad S. (2024). High-Altitude Medicinal Plants as Promising Source of Phytochemical Antioxidants to Combat Lifestyle-Associated Oxidative Stress-Induced Disorders. *Pharmaceuticals*, 17(8), 975.
- Atere AD., Osadolor HB. (2017). Evaluation of Oxidative Stress Biomarkers and Atherogenic Indices in Adult Wistar Rats Exposed to Pyrethroid Insecticides. *American Journal of Biomedical Science*. 9(2), 75-84.
- Atere AD., Ajani OF., Moronkeji A., Ajibade VO., Osadolor HB. (2021). Immunomodulatory response and serum level of neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) as a marker of acute kidney injury in Wistar rats exposed to pyrethroids. *Journal of Cellular Biotechnology*, 7(2), 99-109.
- Attia YA., Hassan RA., Addeo NF., Bovera F., Alhotan RA., Al-Qurashi AD., Basiouni S. (2023). Effects of spirulina platensis and/or *allium sativum* on antioxidant status, immune response, gut morphology, and intestinal lactobacilli and coliforms of heat-stressed broiler chicken. *Veterinary Sciences*, 10(12), 678.

Batiha GES., Beshbishy AM., Wasef G., Elewa YH., Al-Sagan A., Abd El-Hack ME., Prasad Devkota H. (2020). Chemical constituents and pharmacological activities of garlic (*Allium sativum* L.): A review. *Nutrients*, 12(3), 872.

Bazaraliyeva A., Moldashov D., Turgumbayeva A., Kartbayeva E., Kalykova A., Sarsenova L., Issayeva R. (2022). Chemical and biological properties of bio-active compounds from garlic (*Allium sativum*). *Pharmacia*, 69, 955-964.

Beena V. (2023). Excretory Physiology. In: *Textbook of Veterinary Physiology*. Singapore: Springer Nature Singapore, 213-231.

- Ben Amara I., Ben Saad H., Hakim A., Elwej A., Kallel C., Boudawara O., Zeghal N. (2017). Oxidative stress and histopathological changes induced by methyl thiophanate, a systemic fungicide, in blood, liver and kidney of adult rats. *African Health Sciences*. 17(1), 154-163.
- Ben Saad^a A., Feki O., Boudawara A., Hakim IB. (2017). Amara, Effects of selenium on tebuconazole-induced hepatotoxicity in adult rats, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 6(6): 105-109.
- Ben Saad^b I., Kammoun K., Zeghal I., Benamara C., Magné A, Hakim, IB. (2017). Effects of selenium on tebuconazole-induced nephrotoxicity in adult rats. *Journal de l'information Medicale de Sfax*. 17: 35-42.
- Ben Saad H., Hakim A., Zeghal K., Amara E. (2021). Effets correcteurs des polysaccharides de l'algue rouge *ALSIDIUM Corallinum* contre la toxicité induite par le tebuconazole. *Journal de l'Information Médicale de Sfax*. 41-47.
- Bernabo I., Guardia A., Macirella R., Sesti S., Tripepi S., Brunelli E. (2020). Tissues injury and pathological changes in *Hyla intermedia* juveniles after chronic larval exposure to tebuconazole. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 205, 111367.
- Beyer WF., Fridovich I. (1987). Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical biochemistry*. 161(2), 559-566.
- Bhatla SC., Lal MA. (2023). Secondary metabolites. In *Plant physiology, development and metabolism* (pp. 765-808). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Bhatwalkar SB., Mondal R., Krishna SBN., Adam JK., Govender P., Anupam R. (2021). Antibacterial properties of organosulfur compounds of garlic (*Allium sativum*). *Frontiers in Microbiology*, 12, 613077.
- Bouaziz M., Feki I., Ayadi M., Jemai H., Sayadi S. (2010). Stability of refined olive oil and olive-pomace oil added by phenolic compounds from olive leaves. *EJLST*, 112(8), 894-905.
- Bouaziz M., Sayadi S. (2005). Isolation and evaluation of antioxidants from olives leaves of a Tunisia. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 107, 497–504.
- Bradford MM. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*. 72(1-2), 248-254.
- Brkić VD., Vitorović SL., Gašić SM., Nešković NK. (2008). Carbofuran in water: Subchronic toxicity to rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 25 : 334-341.

Buege JA., Aust SD. (1978). Microsomal lipid peroxidation. In *Methods in enzymology*. 52, 302-310.

Carr AC., Lunt H. (2022). Is “renal leak” of vitamin C an issue for people with diabetes?. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 116(1), 3-4.

Carreón-Delgado DF., Hernández-Montesinos IY., Rivera-Hernández KN., del Sugeyrol Villa-Ramírez M., Ochoa-Velasco CE., Ramírez-López C. (2023). Evaluation of pretreatments and extraction conditions on the antifungal and antioxidant effects of garlic (*Allium sativum*) peel extracts. *Plants*. 12(1), 217.

Čeryová N., Čičová I., Lidiková J., Šnirc M., Horváthová J., Lichtnerová H., Franková H. (2021). The content of bioactive compounds and antioxidant activity of garlic (*Allium sativum* L.). *Slovak Journal of Food Sciences*. 15.

Chaabane M., Koubaa N., Soudani A., Elwej M., Grati K., Jamoussi T., Tahia Boudawara S., Ellouze C., Zeghal N. (2017). *Nitraria retusa* fruit prevents penconazole-induced kidney injury in adult rats through modulation of oxidative stress and histopathological changes. *Pharmaceutical Biology*. 55(1), 1061-1073.

Chahbani A., Benissa Z., Jridi M., Zouari N., Fakhfakh N. (2024). Thermal Processing Impacts on Drying Kinetics, LC–ESI–MS Based Chemical Profiling, and Antioxidant Capacity of Garlic (*Allium sativum* L.) Leaves. *Chemistry Africa*. 1-11.

Chakroun S., Ezzi L., Grissa I., Emna Kerkeni E., Neffati F., Bhourri R., sallem A., Najjar MF., Hassine M., Mehdi M., Haouas Z., Ben Cheikh H. (2016). Hematological, biochemical, and toxicopathic effects of subchronic acetamiprid toxicity in wistar rats. *Environmental Science and Pollution Research*. 23, 25191-25199.

Chandra P., Nagar K. (2023). Protective role of Vitamin C pretreatment in acute nickel nephrotoxicity in mice. *Revista Electronica de Veterinaria*. 24(2), 67-80.

Chen Y., Yan D., Xu J., Xiong H., Luan S., Xiao C., Huang Q. (2023). The importance of selecting crystal form for triazole fungicide tebuconazole to enhance its botryticidal activity. *Science of The Total Environment*. 854, 158778.

Da Silva AP., Farina M., Franco JL., Dafre AL., Kassa J., Kuca K. (2008). Temporal effects of newly developed oximes (K027, K048) on malathion-induced acetylcholinesterase inhibition and lipid peroxidation in mouse prefrontal cortex. *Neurotoxicology*, 29:184-9.

- Da Silva AP., Meotti FC., Santos AR., Farina M. (2006). Lactational exposure to malathion inhibits brain acetylcholinesterase in mice. *Neurotoxicology*. 27:1101-5.
- Delattre J., Beaudoux JL., Bonnefont R. (2005). Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris. 353–376
- Derbalah AS. (2009). Chemical remediation of carbofuran insecticide in aquatic system by advanced oxidation processes. *Journal of Agricultural Research*. Kafr Elsheikh University. 35(1), 308-327.
- Derouiche S., Serouti A., Rezzagmohcen OS. (2019). Risk of Metribuzin (Triazinone herbicide) on hematological and renal structure and function of pregnancy rabbits. *Asian Journal of Biological Sciences*. 12, 192-198.
- Dhouib IEB. (2015). Anti-inflammatory effects of N-acetylcysteine against carbosulfan-induced hepatic impairment in male rats. *Recent Advances in Biology and medicine*. 1(2015), 326.
- Del Carmen Villegas-Aguilar M., de la Luz Cádiz-Gurrea M., Arráez-Román D., Segura-Carretero A. (2023). Anti-aging effects of phenolic compounds. In *Anti-Aging Pharmacology* (pp. 119-152). Academic Press.
- Dhall RK., Cavagnaro PF., Singh H., Mandal S. (2023). History, evolution and domestication of garlic: a review. *Plant Systematics and Evolution*. 309(5), 33.
- Dinca V., Docea AO., Drocas AI., Nikolouzakis TK., Stivaktakis PD., Nikitovic D., Tsatsakis A. (2023). A mixture of 13 pesticides, contaminants, and food additives below individual NOAELs produces histopathological and organ weight changes in rats. *Archives of toxicology*. 97(5), 1285-1298.
- Dorrigiv M., Zareiyan A., Hosseinzadeh H. (2020). Garlic (*Allium sativum*) as an antidote or a protective agent against natural or chemical toxicities: A comprehensive update review. *Phytotherapy Research*. 34(8), 1770-1797.
- Doseděl M., Jirkovský E., Macáková K., Krčmová LK., Javorská L., Pourová J., Oemonom. (2021). Vitamin C—sources, physiological role, kinetics, deficiency, use, toxicity, and determination. *Nutrients*. 13(2), 615.

Elbeltagy A., Mohamed G., Akeel M., Abdelaziz K., Elbakry K., & Elsayed A. (2022). Modulatory role of garlic (*Allium sativum*) extract against cisplatin-induced nephrotoxicity in female albino rats and their offspring. *F1000Research*. 11.

El-Gendy K., Mahmoud F., El-Sebae AK. (2010). Protective effect of vitamin C against chlorpyrifos oxidative stress in male mice. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 97: 7–12.

El Khasmi M., Farh M. (2022). Impact des plantes médicinales sur le rein. *Biologie Medical*, 2, 32-40.

Ellman GL., Courtney KD., ANDRES V., Featherstone RM. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*. 7: 88-95.

El-Sheikh ESA., Hamed IA., Alduwish MA., Momenah MA., Melebary SJ., Alsolmy SA., Shalaby AA. (2024). The Ameliorative Effect of Vitamin C against Sub-chronic Thiamethoxam Toxicity in Male Rats. *Pakistan Veterinary Journal*, 44(3), 803-811.

F arag G., Kotb. (2017). Hemato-biochemical reponses under stress of mancozeb fungicide (75% WP) in male albino rat. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*. 4 (10), 116-127.

Feng M., Hu Y., Yang L., Wu J., Yang G., Jian S., Wen C. (2023). GST-Mu of *Cristaria plicata* is regulated by Nrf2/Keap1 pathway in detoxification microcystin and has antioxidant function. *Aquatic Toxicology*. 263, 106708.

Ferrada L., Magdalena R., Barahona MJ., Ramírez, E., Sanzana C., Gutiérrez J., Nualart F. (2021). Two distinct faces of vitamin C: AA vs. DHA. *Antioxidants*, 10(2), 215.

Feszterová M., Mišiaková M., Kowalska M. (2023). Bioactive vitamin C content from natural selected fruit juices. *Applied Sciences*, 13(6), 3624.

Fierascu RC., Fierascu I., Baroi AM., Ortan A. (2021). Selected aspects related to medicinal and aromatic plants as alternative sources of bioactive compounds. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), 1521.

Flohe L., Gunzler WA. (1984). Assays of glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology*. 105, 114–121.

Friesen N. (2022). Introduction to edible alliums: evolution, classification and domestication. In *Edible alliums: botany, production and uses* (pp. 1-19). GB: CABI.

G ad AAM., Sirko A. (2024). L-gulono- γ -lactone Oxidase, the Key Enzyme for L-Ascorbic Acid Biosynthesis. *Current Issues in Molecular Biology*, 46(10), 11057-11074.

- Gambelli L., Marconi S., Durazzo A., Camilli E., Aguzzi A., Gabrielli P., Lisciani S. (2021). Vitamins and minerals in four traditional garlic ecotypes (*Allium sativum* L.) from Italy: An example of territorial biodiversity. *Sustainability*. 13(13), 7405.
- Gantsova E., Serova O., Vishnyakova P., Deyev I., Elchaninov A., Fatkhudinov T. (2024). Mechanisms and physiological relevance of acid-base exchange in functional units of the kidney. *PeerJ*, 12, e17316.
- Garg G., Singh S., Singh A. K., & Rizvi S. I. (2017). Metformin alleviates altered erythrocyte redox status during aging in rats. *Rejuvenation Research*, 20(1), 15-24.
- Goetz P., & Ghedira K. (2012). *Phytothérapie anti-infectieuse*. Paris, France: Springer, 271-279.
- Gök E., Deveci, E. (2022). Histopathological, immunohistochemical and biochemical alterations in liver tissue after fungicide-mancozeb exposures in Wistar albino rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 37(4), e370404.
- Gowdar SB., Hurali S., Kulkarni S. (2024). Evaluation of Tebuconazole 6% FS against Collar Rot, Stem Rot and Root Rot Disease Complex in Groundnut. *Asian Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 10(1), 469-478.
- Gutgesell RM., Tsakiridis EE., Jamshed S., Steinberg GR., Holloway, A. C. (2020). Impact of pesticide exposure on adipose tissue development and function. *Biochemical Journal*, 477(14), 2639-2653.
- H**abig WH., Pabst MJ., Jakoby WB. (1974). Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry*. 249(22), 7130-7139.
- Harsij M., Kanani HG., Adineh H. (2020). Effects of antioxidant supplementation (nano selenium, vitamin C and E) on growth performance, blood biochemistry, immune status and body composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under sub-lethal ammonia exposure. *Aquaculture*, 521, 734942.
- Hassan H., Hafez HS., Zeghebar F. (2010). Garlic oil as a modulating agent for oxidative stress and neurotoxicity induced by sodium nitrite in male albino rats. *Food and Chemical Toxicology*. 84, 1980-1985.
- Hassan SL., Khedr RM. (2021). Histopathological Effect of Potassium Peroxymonosulfate in Albino Mice Treated with Vitamin C. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*. 25(6), 6636-6645.

Hassouna I., Ibrahim H., Abdel Gaffar F., El-Elaimy I., Abdel Latif H. (2015). Simultaneous administration of hesperidin or garlic oil modulates diazinon-induced hemato-and immunotoxicity in rats. *Immunopharmacology and immunotoxicology*. 37(5), 442-449.

Hernández-Montesinos IY., Carreón-Delgado DF., Ocaranza-Sánchez E., Ochoa-Velasco CE., Suárez-Jacobo Á., Ramírez-López C. (2023). Garlic (*Allium sativum*) peel extracts and their potential as antioxidant and antimicrobial agents for food applications: influence of pretreatment and extraction solvent. *International Journal of Food Science & Technology*. 58(12), 6794-6805.

Hould R. (1984). *Techniques d'histopathologie et de cytopathologie*. Editions Maloine. 19-21, 225-227

Huang CWW., Hsu HY., Pan KT., Lee CW., Chong SW., Chen SM. (2022). Reappraisal of the role of alkaline phosphatase in hepatocellular carcinoma. *Journal of Personalized Medicine*, 12(4), 518.

Idoko AS., Abdullahi A., Maibulangu BM., Nura L., Imam NU., Bonomi ZM., Umar S. (2022). *Allium sativum* and Curcuma longa Powder Protect Against Hepatotoxic and Nephrotoxic Effects of High-fructose Diet. *FUOYE Journal of Pure and Applied Sciences (FJPAS)*, 7(1), 59-78.

Ileriturk M., Kandemir FM. (2023). Carvacrol protects against λ -Cyhalothrin-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity by modulating oxidative stress, inflammation, apoptosis, endoplasmic reticulum stress, and autophagy. *Environmental Toxicology*. 38(7), 1535-1547.

Ismail SM. (2013). Protective effects of vitamin C against biochemical toxicity induced by malathion pesticides in male albino rat. *Journal of Evolutionary Biology Research*. 5(1), 1-5.

Jacques-Silva MC., Nogueira CW., Broch LC. (2001). Diphenyldiselenide and ascorbic acid changes deposition of selenium and ascorbic acid in liver and brain of mice. *Pharmacology and Toxicology*. 88, 119–125.

Jamshidovich AS. (2023). Ascorbic acid: its role in immune system, chronic inflammation diseases and on the antioxidant effects. *EUROPEAN JOURNAL OF MODERN MEDICINE AND PRACTICE*, 3(11), 57-60.

Jikah AN., Edo GI. (2023). Mechanisms of action by sulphur compounds in *Allium sativum*. A review. *Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine*. 100323.

Jikah AN., Edo GI., Makia RS., Yousif E., Gaaz TS., Isoje EF., Umar H. (2024). A Review of the Therapeutic Potential of Sulfur Compounds in *Allium sativum*. Measurement: Food. 100195.

Jollow D., Mitchell J., Zampaglione N. A., & Gillette J. R. (1974). Bromobenzene-induced liver necrosis. Protective role of glutathione and evidence for 3, 4-bromobenzene oxide as the hepatotoxic metabolite. Pharmacology, 11(3), 151-69.

Julkunen-Tiitto R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. JAFc, 33(2), 213-7.

Kalyabina V. P., Esimbekova E. N., Kopylova K. V., & Kratasyuk V. A. (2021). Pesticides: formulants, distribution pathways and effects on human health—a review. Toxicology Reports, 8, 1179-1192.

Kamila SR., Mukono IS., Indiasuti DN. (2023). The Effectiveness of Black Garlic (*Allium sativum* L. Fermentation) on Blood Glucose Levels in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. The Effectiveness of Black Garlic (*Allium sativum* L. Fermentation) on Blood Glucose Levels in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats, 117(1), 6-6.

Karaboduk H., Adiguzel C., Apaydin FG., Uzunhisarcikli M., Kalender S., & Kalender Y. (2024). The ameliorative effect of Naringenin on fenamiphos induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in a rat model: Oxidative stress, inflammatory markers, biochemical, histopathological, immunohistochemical and electron microscopy study. Food and Chemical Toxicology. 192, 114911.

Karmakar A., Das AK., Ghosh N., & Sil PC. (2022). Superoxide dismutase. In Antioxidants Effects in Health (pp. 139-166). Elsevier.

Kayali R., Cakatay U., Akcay T., Atlug T. (2006). Effect of alpha-lipoic acid supplementation on markers of protein oxidation in post-mitotic tissues of ageing rat. Cell Biochem Funct. 24, 79–85.

Khouader M., Benkirane R., Touhami A. O., & Douira A. (2013). Étude de quelques Pucciniales liés aux plantes cultivées au Maroc. Journal of Applied Biosciences, 72, 5869-5882.

Koregol AC., Kalburgi NB., Wagh AUK., Warad S. (2017). Gamma glutamyl transpeptidase, smokeless tobacco, chronic periodontitis: exploring the Link. Journal of Clinical and Diagnostic Research. 11(3), ZC17-Z20.

Kovalčíková AG., Pavlov K., Lipták R., Hladová M., Renczés E., Boor P., Celec, P. (2020). Dynamics of salivary markers of kidney functions in acute and chronic kidney diseases. *Scientific Reports*, 10(1), 21260.

Kovarovič J., Bystrická J., Vollmannová A., Tóth T., Brindza, J. (2019). Biologically valuable substances in garlic (*Allium sativum* L.)—A review. *Journal of Central European Agriculture*, 20(1), 292-304.

Kurban S., Mehmetoğlu İ. (2008). The effect of alcohol on total antioxidant activity and nitric oxide levels in the sera and brains of rats. *Turkish Journal of Medical Sciences*. 38(3), 199-204.

Lafi B., Chaâbane M., Elwej A., Grati M., Jamoussi K., Mnif H., Zeghal N. (2017). Effects of co-exposure to imidacloprid and gibberellic acid on redox status, kidney variables and histopathology in adult rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 124(2), 175184.

Leite FG., Silva CDP. M., Miranda RG., Dorta DJ. (2024). Comparison of in vitro toxicity in HepG2 cells: Toxicological role of Tebuconazole-tert-butyl-hydroxy in exposure to the fungicide Tebuconazole. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 202, 105954.

Leopoldini M., Russo N., Toscano M. (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food chemistry*. 125(2), 288-306.

Levine RL. (2002). Carbonyl modified protein in cellular regulation, aging, and disease. *Free Radic. Biol. Med.*, 32, 790-6.

Levine RL., Garland D., Oliver CN., Amici A., Climent I., Lenz AG., Ahn BW., Shaltiel S., Stadtman ER. (1990). Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*. 186: 464.

Li J., Li X., Zhang Z., Cheng W., Liu G., Zhao, G. (2023). High-fat diet aggravates the disorder of glucose metabolism caused by chlorpyrifos exposure in experimental rats. *Foods*, 12(4), 816.

Liu W., Cui X., Zhong Y., Ma R., Liu B., Xia, Y. (2023). Phenolic metabolites as therapeutic in inflammation and neoplasms: Molecular pathways explaining their efficacy. *Pharmacological research*, 193, 106812.

Luo JF., Dong Y., Chen JY., Lu JH. (2021). The effect and underlying mechanisms of garlic extract against cognitive impairment and Alzheimer's disease: A systematic review and meta-analysis of experimental animal studies. *Journal of ethnopharmacology*, 280, 114423.

- M**akhlouf C., Khaldoun Oularbi H., Bokreta S., Oularbi Y., Zerrouke H., Daoudi Zerrouki N. (2021). Protective Effects of Vitamin C on Ivermectin Induced Toxicity on Kidney Functions and Brain Tissue in Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, D. Histology & Histochemistry*, 13(1), 63-77.
- Mani VM., Gokulakrishnan A., Sadiq AM. (2017). Molecular Mechanism of Neurodevelopmental Toxicity Risks of Occupational Exposure of Pyrethroid Pesticide with Reference to Deltamethrin. A Critical Review. *BAOJ Pathology*, 1(008).
- Mansour SA., Mossa ATH., Heikal TM. (2009). Effects of methomyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat erythrocytes: in vitro studies. *Toxicology and Industrial Health*, 25(8), 557-563.
- Margaritelis NV., Chatzinikolaou PN., Bousiou FV., Malliou VJ., Papadopoulou SK., Potsaki P., Paschalis V. (2021). Dietary cysteine intake is associated with blood glutathione levels and isometric strength. *International Journal of Sports Medicine*, 42(05), 441-447.
- Meligi NM., Hassan HF. (2017). Protective effects of *Eruca sativa* (rocket) on abamectin insecticide toxicity in male albino rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 9702-9712.
- Meng Z., Liu L., Yan S., Sun W., Jia M., Tian S., Zhu W. (2020). Gut microbiota: a key factor in the host health effects induced by pesticide exposure?. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(39), 10517-10531.
- Messina CM., Manuguerra S., Arena R., Espinosa-Ruiz C., Curcuraci E., Esteban MA., & Santulli A. (2023). Contaminant-induced oxidative stress underlies biochemical, molecular and fatty acid profile changes, in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Research in Veterinary Science*, 159, 244-251.
- Milosevic MD., Paunovic MG., Matic MM., Ognjanovic BI., Saicic ZS. (2018). Role of selenium and vitamin c in mitigating oxidative stress induced by fenitrothion in rat liver. *Biomedicine and pharmacotherapy*, 106, 232-238.
- Moreira MV., Pereira SC., Guerra-Carvalho B., Carrageta DF., Pinto S., Barros A., Alves MG. (2022). Hyperoside supplementation in preservation media surpasses vitamin C protection against oxidative stress-induced damages in human spermatozoa. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 56(S1), 1-23.
- Moritz B., Schmitz AE., Rodrigues ALS., Dafre AL., Cunha MP. (2020). The role of vitamin C in stress-related disorders. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 85, 108459.

Mukthamba P., Srinivasan K. (2016). Hypolipidemic and antioxidant effects of dietary fenugreek (*Trigonellafenum-graecum*) seeds and garlic (*Allium sativum*) in high-fat fed rats. *Food Bioscience*. 14, 1-9.

Mukherjee M., Das AS., Mitra S., Mitra C. (2004). Prevention of bone loss by oil extract of garlic (*Allium sativum* Linn.) in an ovariectomized rat model of osteoporosis. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(5), 389-394.

Mumtaz S., Ali S., Tahir H. M., Kazmi S. A. R., Shakir H. A., Mughal T. A., ... & Farooq M. A. (2021). Aging and its treatment with vitamin C: a comprehensive mechanistic review. *Molecular Biology Reports*, 1-13.

Muscolo A., Mariateresa O., Giulio T., Mariateresa R. (2024). Oxidative stress: the role of antioxidant phytochemicals in the prevention and treatment of diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(6), 3264.

Mutha RE., Tatiya AU., Surana S. J. (2021). Flavonoids as natural phenolic compounds and their role in therapeutics: An overview. *Future journal of pharmaceutical sciences*, 7, 1-13.

Najman K., Sadowska A., Hallmann E. (2020). Influence of thermal processing on the bioactive, antioxidant, and physicochemical properties of conventional and organic agriculture black garlic (*Allium sativum* L.). *Applied Sciences*. 10 (23), 8638.

Negre-Salvayre A., Swiader A., Salvayre R., Guerby P. (2022). Oxidative stress, lipid peroxidation and premature placental senescence in preeclampsia. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 730, 109416.

Ncir M., Ben Ali M., Sellami H., Allagui MS., Lahyani A., Makni Ayadi F., Saoudi M. (2020). Protective effects of *Allium sativum* essential oil rich in disulfides against deltamethrin induced oxidative stress and hepatotoxicity in rats. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 14, 2667-2675.

Ncir M., Ben Salah G., Kamoun H., Makni Ayadi F., Khabir A., El Feki A., Saoudi M. (2016). Histopathological, oxidative damage, biochemical, and genotoxicity alterations in hepatic rats exposed to deltamethrin: modulatory effects of garlic (*Allium sativum*). *Canadian journal of Physiology and Pharmacology*. 94(6), 571-578.

Nwogueze BC., Ojieh AE., Aloamaka CP., Igweh JC., Onyesom I. (2021). Levels of glutathione-related antioxidants in some tissues of stressed Wistar rats. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*. 65(3), 167-176.

Ogundiran MA., Fawole OO. (2018). toxic effects of water pollution on two bio-indicators of aquatic resources of Asa River, Nigeria. *Journal of Fisheries Sciences. Com.* 12(2), 20-27.

Oršolić N., Jazvinščak Jembrek M. (2022). Molecular and cellular mechanisms of propolis and its polyphenolic compounds against cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 10479.

Oswald IP., Wynn TA., Sher A., James SL. (1992). Interleukin 10 inhibits macrophage microbicidal activity by blocking the endogenous production of tumor necrosis factor alpha required as a costimulatory factor for interferon gamma-induced activation. *Proceeding of the national academy of sciences.* 15: 89(18): 8676.

Otten AT., Bourgonje AR., Peters V., Alizadeh BZ., Dijkstra G., Harmsen, H. J. (2021). Vitamin C supplementation in healthy individuals leads to shifts of bacterial populations in the gut—a pilot study. *Antioxidants*, 10(8), 1278.

Ozturk Kurt B., Ozdemir S. (2023). Selenium heals the chlorpyrifos-induced oxidative damage and antioxidant enzyme levels in the rat tissues. *Biological Trace Element Research.* 201(4), 1772-1780.

Prabayanti IAST., Dewi IGAMK., Nuriyasa IM. (2024). The Effect of Adding Fermented Garlic (*Allium Sativum*) Peel Extract Through Drinking Water on Intestinal Histology, Meat Chemistry, and Digestive Tract Microbes of Broilers. *International Journal of Life Sciences and Earth Sciences.* 7(1), 68-75.

Praditi C., Bozonet SM., Dachs GU., Vissers MC. (2023). Ascorbate Uptake and Retention by Breast Cancer Cell Lines and the Intracellular Distribution of Sodium-Dependent Vitamin C Transporter 2. *Antioxidants*, 12(11), 1929.

Prieto P., Pineda M., Anguilar M. (1999). Spectrophotometric quantification of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry.* 269, 337– 341. 25.

PROTA. (2018). Linedrawing *Allium sativum*. Via Open Media, Disponible sur : https://speciesid.net/o/index.php?title=Image:Linedrawing_Allium_sativum.gif#/media/File:Linedrawing_Allium_sativum.gif.

Qiu Z., Qiao Y., Zhang B., Sun-Waterhouse D., Zheng Z. (2022). Bioactive polysaccharides and oligosaccharides from garlic (*Allium sativum* L.): Production, physicochemical and biological properties, and structure–function relationships. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 21(4), 3033-3095.

Rahal A., Kumar A., Singh V., Yadav B., Tiwari R., Chakraborty S., Dhama K. (2014). Oxidative stress, prooxidants and antioxidants: the interplay. *Biomedical Research International*. 2014: 1-19.

Queirós L., Aguiar N., Pereira P., Gonçalves FJ., Alves A., Pereira JL. (2023). Recommended rates of azoxystrobin and tebuconazole seem to be environmentally safe but ineffective against target fungi. *Ecotoxicology*. 32(1), 102-113.

Rai DK., Rai PK., Rizvi SI., Watal G., Sharma B. (2009). Carbofuran-induced toxicity in rats: Protective role of vitamin C. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 61(6): 531-535.

Ramakrishna MP., Prasad RM., Huchegowda S., Ramanna M., Sharma MK., Huchegowda R. (2022). Adverse effects of plasticizers and pesticides on female reproductive health. *Journal of Psychosexual Health*, 4(1), 38-42.

Rauf A., Abu-Izneid T., Thiruvengadam M., Imran M., Olatunde A., Shariati MA., Kazhybayeva G. (2022). Garlic (*Allium sativum* L.): Its chemistry, nutritional composition, toxicity, and anticancer properties. *Current topics in medicinal chemistry*. 22(11), 957-972.

Recinella L., Gorica E., Chiavaroli A., Frascetti C., Filippi A., Cesa S., Leone S. (2022). Anti-inflammatory and antioxidant effects induced by *Allium sativum* L. extracts on an ex vivo experimental model of ulcerative colitis. *Foods*. 11(22), 3559.

Refaie AA., Ramadan A., Sabry NM., Khalil WK., Mossa ATH. (2020). Over-gene expression in the apoptotic, oxidative damage and liver injury in female rats exposed to butralin. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 31383-31393.

Rieg CEH., Cattani D., Napolini NF., Cenci VH., Cavalli VLDLO., Jacques AV., Zamoner A. (2022). Perinatal exposure to a glyphosate pesticide formulation induces offspring liver damage. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 454, 116245.

RO A., AUO., FO I. (2023). Assessment of hepatoprotective potential of ethanolic extract of *Allium sativum* (garlic) in diabetes induced male Wistar Albino rats. *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences*. 25(11), 8-13.

Robea MA., Jijie R., Nicoara M., Plavan G., Ciobica AS., Solcan C., Strungaru SA. (2020). Vitamin C attenuates oxidative stress and behavioral abnormalities triggered by fipronil and pyriproxyfen insecticide chronic exposure on zebrafish juvenile. *Antioxidants*. 9(10), 944.

Sahin IK., Sezar CV., Ayhanci A. (2024). The effects of oxidative stress on cellular structures : lipide peroxidation. *Oxidative stress and antioxidant defense systems*. 15.

Salihu M., Ajayi BO., Adedara IA., Farombi EO. (2016). 6-Gingerol-rich fraction from *Zingiber officinale* prevents hematotoxicity and oxidative damage in kidney and liver of rats exposed to carbendazim. *Journal of dietary supplements*. 13(4), 433-448.

Saoudi M., Messarah M., Boumendjel A., Jamoussi K., El Feki A. (2011). Protective effects of vitamin C against haematological and biochemical toxicity induced by deltamethrin in male Wistar rats. *Ecotoxicology and environmental safety (Print)*. 74(6), 1765-1769.

Saxena P., Selvaraj K., Khare SK., Chaudhary N. (2022). Superoxide dismutase as multipotent therapeutic antioxidant enzyme : Role in human diseases. *Biotechnology Letters*. 1-22.

Seesen M., Prachayasakul W., Pintana H., Chattipakorn N., Chattipakorn SC. (2022). Exposure to organophosphates in association with the development of insulin resistance: Evidence from in vitro, in vivo, and clinical studies. *Food and Chemical Toxicology*, 168, 113389.

Selvamary VN., Brundha MP., Girija AS. (2020). Role of Vitamin C in Immune Function of Human Body. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, 14(4).

Semren TŽ., Žunec S., Pizent A. (2018). Oxidative stress in triazine pesticide toxicity: a review of the main biomarker findings. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 69(2), 109-125.

Settimi F. (2010). *Filière Nutrition et Diététique. L'ail, une plante aux multiples vertus*. Haute école de santé. Genève, Suisse, 6p.

Shahrajabian MH., Sun W. (2023). Survey on medicinal plants and herbs in traditional Iranian medicine with anti-oxidant, anti-viral, anti-microbial, and anti-inflammation properties. *Letters in Drug Design & Discovery*, 20(11), 1707-1743.

Shakerin M., Oskoueian E., Le HH., Shakeri. (2020). Strategies to combat heat stress in broiler chickens: Unveiling the roles of selenium, vitamin E, and vitamin C. *Veterinary Sciences*, 7(2), 71.

- Shalaby SE., Farrag ARH., El-Saed GS. (2010). Toxicological potential of thiamethoxam insecticide on albino rats and its residues in some organs. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 5(2), 165-172.
- Shi L., Zhao W., Yang Z., Subbiah V., Suleria HAR. (2022). Extraction and characterization of phenolic compounds and their potential antioxidant activities. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(54), 81112-81129.
- Shinnawy M. (2008). Vitamin C as ameliorative agent against thiodicarb toxicated male albino rats (*Rattus norvegicus*). *Egyptian Academic Journal of Biological Science*. 12: 177–187.
- Suhartini S., Widagdo H., Nurhantari Y., Wiraagni IA. (2019). The analysis of cell damage of liver and kidney among alcoholics in Yogyakarta, Indonesia. *Journal of the Medical Sciences (Berkala Ilmu Kedokteran)*, 51(3), 246-257.
- Sule RO., Condon L., Gomes AV. (2022). A common feature of pesticides: oxidative stress—the role of oxidative stress in pesticide-induced toxicity. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2022(1), 5563759.
- Sun B., Chen H., Xue J., Li P., Fu X. (2023). The role of GLUT2 in glucose metabolism in multiple organs and tissues. *Molecular Biology Reports*, 50(8), 6963-6974.
- Soltani A., Shams Abadi MS., Raeisi M., Kouhihabibidehkordi G., Eshaghi F., Mohreh O., Rafieian-Kopaei M. (2023). Apoptosis-inducing Plant-based phenolic compounds are effective on leukemia cell lines. *Current Pharmaceutical Design*, 29(14), 1092-1104.
- Someya S., Kim MJ. (2021). Cochlear detoxification: role of alpha class glutathione transferases in protection against oxidative lipid damage, ototoxicity, and cochlear aging. *Hearing Research*. 402, 108002.

T ahoun E., Mouhamed R., Donia G. (2018). Histopathological and biochemical studies on the effect of Green tea extract and vitamin C against fenitrothion toxicity in male albino rats. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*. 57(1)

Talal S., Gathwan K. (2022). Protective effect of Garlic on pesticide (Cypermethrin) induced hepatotoxicity on liver of mice. *ACE Journal of Animal and Veterinary Sciences*. 1(1).

Taleb-Senouci D., Ghomari H., Krouf D., Bouderbala S., Prost J., Lacaille-Dubois MA., Bouchenak M. (2009). Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*. 16(6-7), 623-631.

- Tofan L., Niță V., Nenciu M., Coatu V., Lazăr L., Damir N., Aonofriesei F. (2023). Multiple assays on non-target organisms to determine the risk of acute environmental toxicity in tebuconazole-based fungicides widely used in the black sea coastal area. *Toxics*. 11(7), 597.
- Torres-Fuentes C., Suarez M., Aragonés G., Mulero M., Ávila-Román J., Arola-Arnal A., Muguerza B. (2022). Cardioprotective properties of phenolic compounds: A role for biological rhythms. *Molecular Nutrition & Food Research*, 66(21), 2100990.
- Touil A., Litaïem J., Zagrouba F. (2015). Isothermes de sorption et propriétés thermodynamiques de l'*Allium sativum*. *Journal of the Tunisian Chemical Society*, 17, 105-114.
- Trauli D., Testolin G., Zanini R., Bellu R. (2004). Determination of oxidative status in breast and formula milk. *Acta Paediatrica*. 93, 1569–1574.
- Tucaliuc A., Cișlaru A., Kloetzer L., Blaga AC. (2022). Strain Development, Substrate Utilization, and Downstream Purification of Vitamin C. *Processes*, 10(8), 1595.

- U**jowundu CO., Nwaogu LA., Ujowundu FN., Oparaeché NN., Oyarebu, AO. (2018). Hepatotoxicity of paraquat dichloride and ameliorative effect of nutritional supplements. *Biochemistry and Molecular Biology Journal*. 4, 21.
- US EPA (United States Environmental Protection Agency). (1999). Federal Register Environmental Documents (Tebuconazole). P 7.
- Usman MB., Priya K., Pandit S., Gupta PK., Agrawal S., Sarma H., Prasad R. (2021). Genetic polymorphisms and pesticide-induced DNA damage: a review. *The Open Biotechnology Journal*, 15(1).

- W**ang M., He J., Li S., Cai Q., Zhang K., She J. (2023). Structural basis of vitamin C recognition and transport by mammalian SVCT1 transporter. *Nature Communications*, 14(1), 1361.
- Wang Y., Zheng C., Qiu M., Zhang L., Fang H., Yu Y. (2024). Tebuconazole promotes spread of a multidrug-resistant plasmid into soil bacteria to form new resistant bacterial strains. *Science of The Total Environment*. 928, 172444.

Yang H., Sun L., Pang Y., Hu D., Xu H., Mao S., Mao Y. (2021). Three-dimensional bioprinted hepatorganoids prolong survival of mice with liver failure. *Gut*. 70(3), 567574.

Zafar S., Aslam N., Zia-Ul-Haq M., Perveen S., Iqbal N. (2023). Garlic. In : *Essentials of Medicinal and Aromatic Crops*. Cham : Springer International Publishing, 2023. p. 459-482.

Zhao M., Zhao H., Deng J., Guo L., Wu B. (2019). Role of the CLOCK protein in liver detoxification. *British Journal of Pharmacology*, 176(24), 4639-4652.

Zhang J., Song W., Sun Y., Shan A. (2017). Effects of phoxim-induced hepatotoxicity on SD rats and the protection of vitamin E. *Environmental Science and Pollution Research*. 24, 24916-24927.

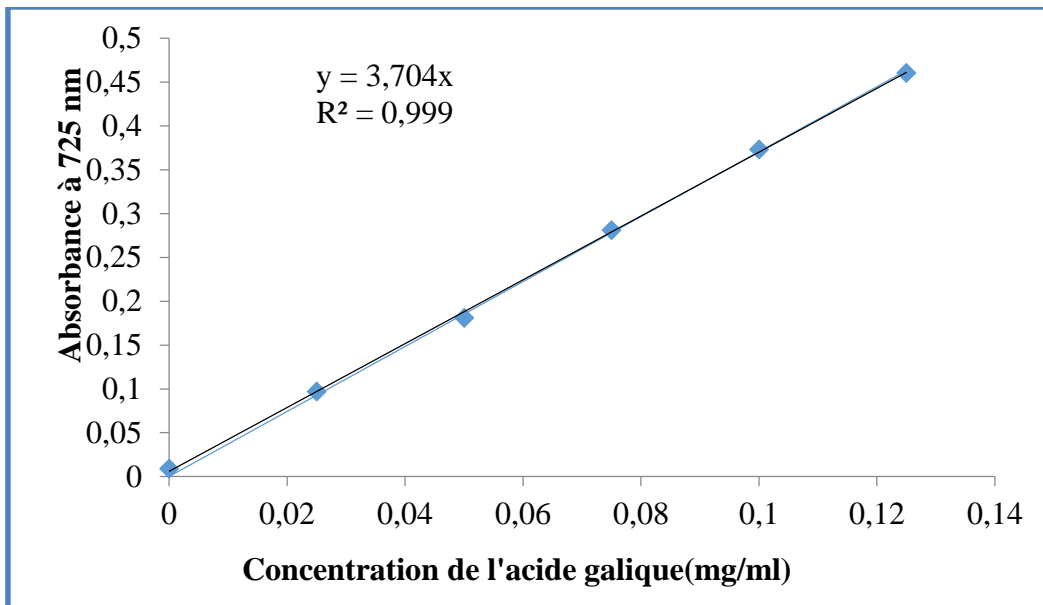
Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*. 64, 555–559.

Ziółkiewicz A., Kasprzak-Drozd K., Rusinek R., Markut-Miotła E., Oniszczyk A. (2023). The influence of polyphenols on atherosclerosis development. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(8), 7146.

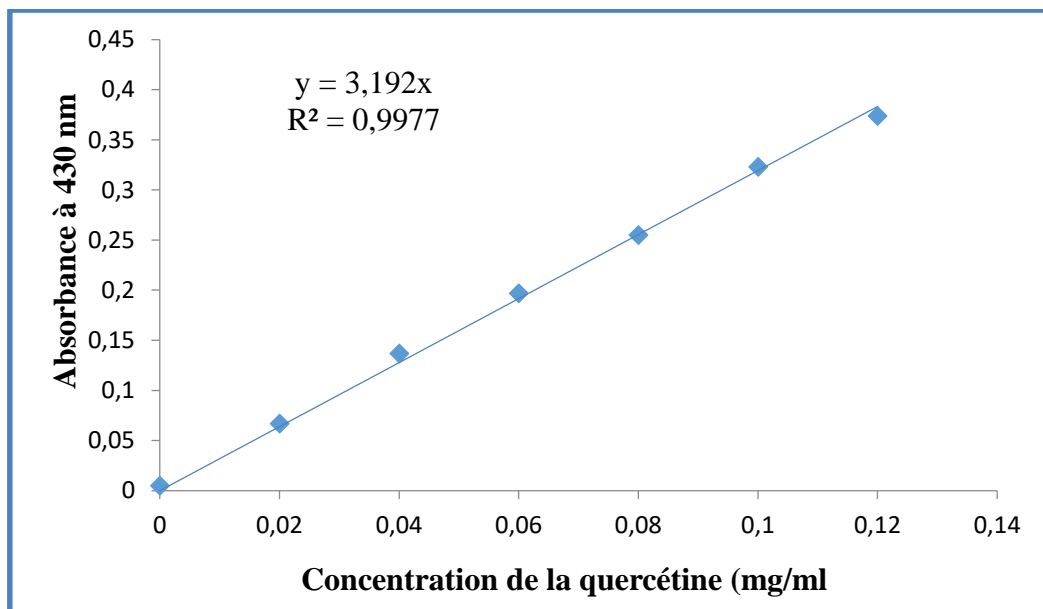
Zulaikhah ST. (2017). The role of antioxidant to prevent free radicals in the body. *Sains Medika*. 8(1), 39-45.

ANNEXES

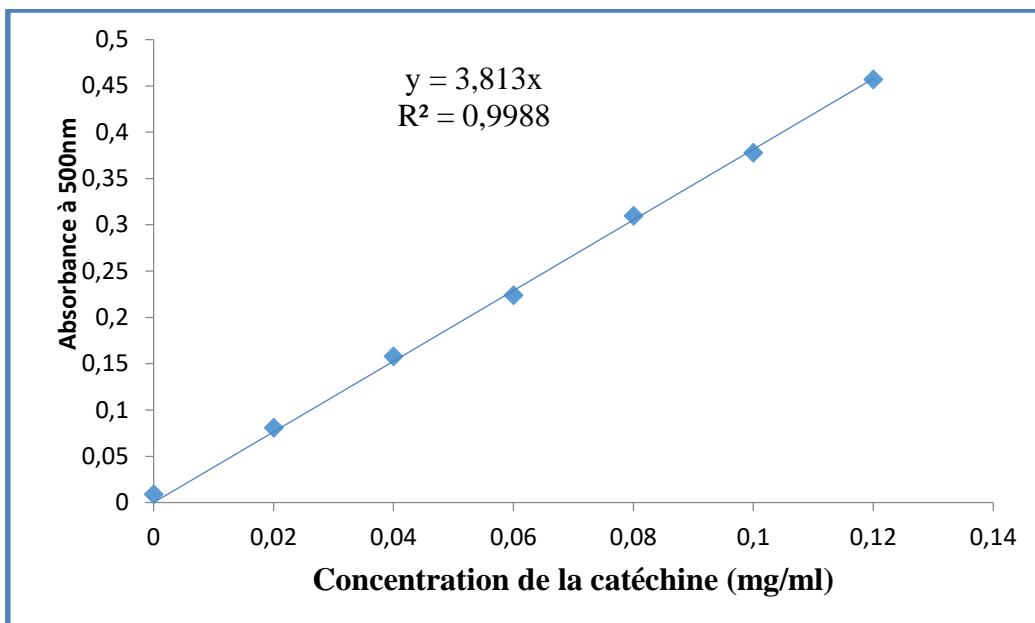
Annexes



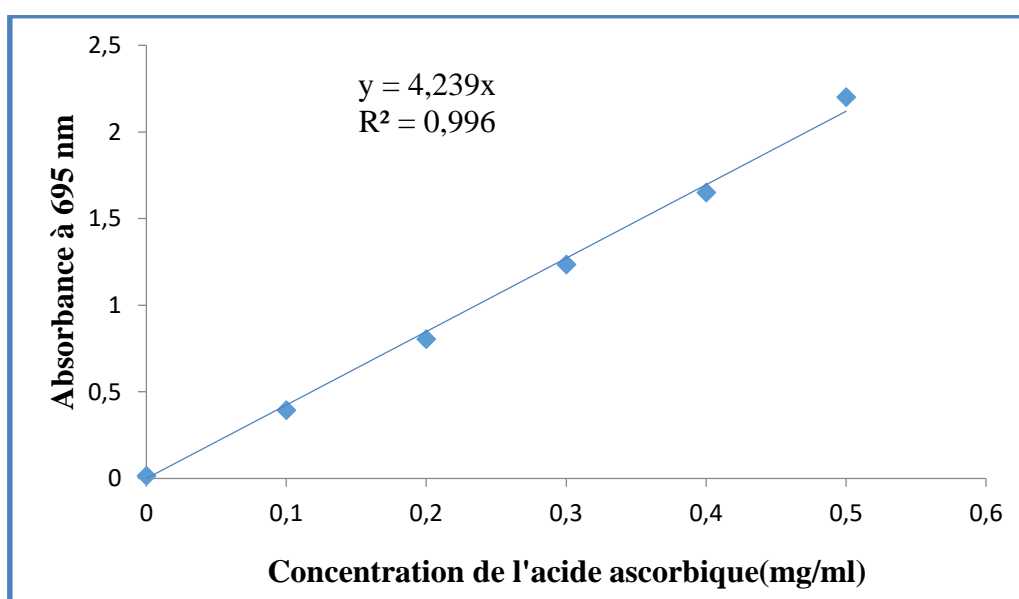
Annexe 01 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (0.2mg/ml).



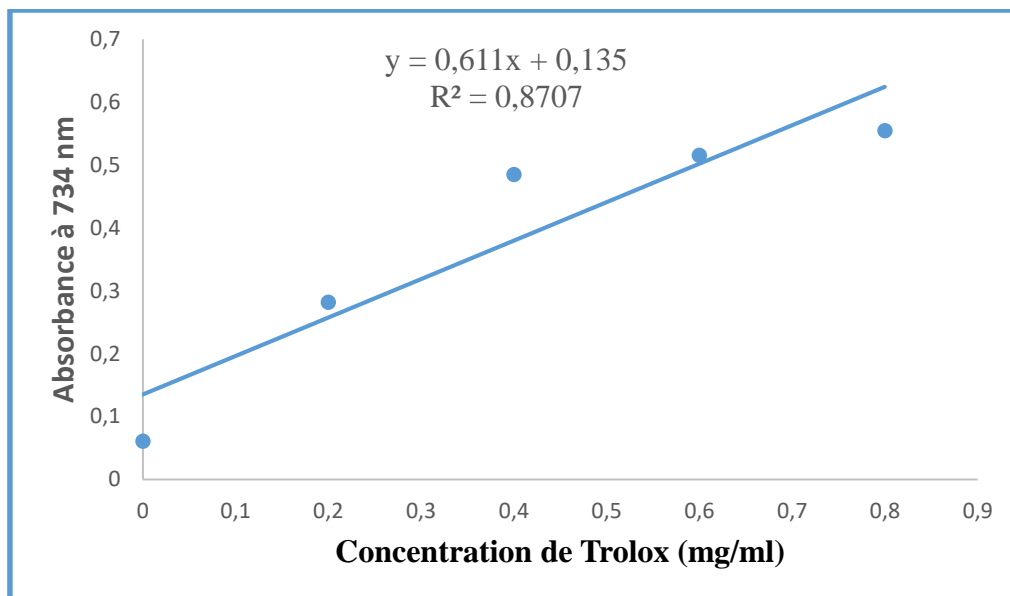
Annexe 02 : Courbe d'étalonnage de la quercétine (0.15mg/ml).



Annexe 03 : Courbe d'étalonnage de la catéchine



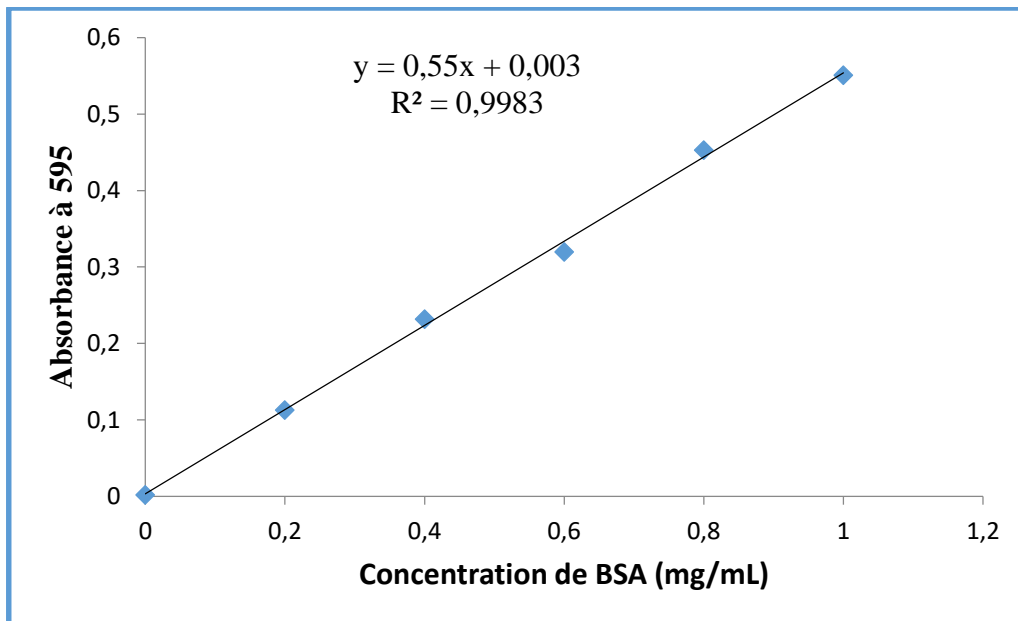
Annexe 04 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (0.6mg/ml).



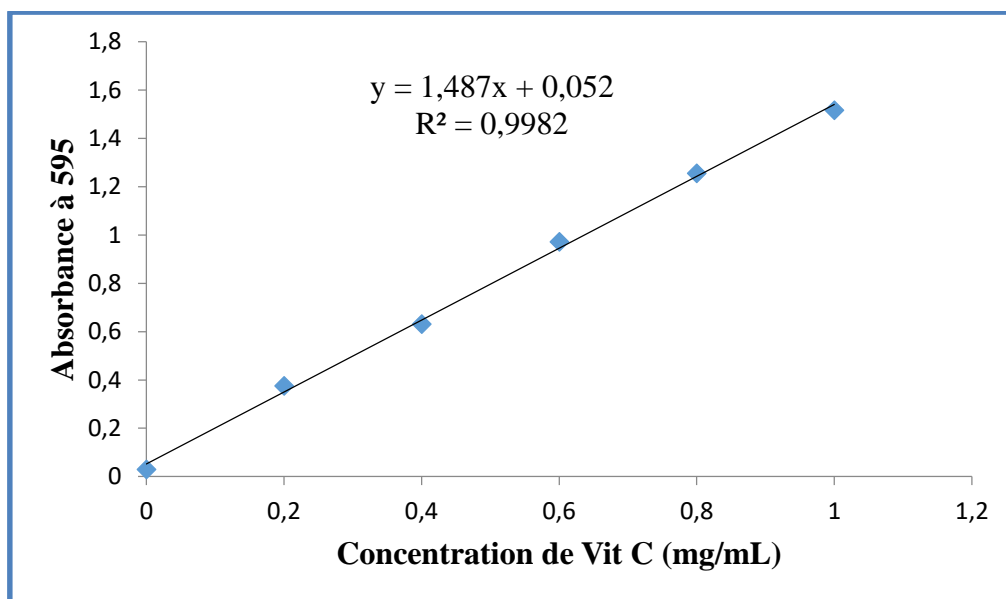
Annexe 05 : Courbe d'étalonnage de Trolox (0.5mg/ml).

Annexe 06 : Composition de l'aliment pour 1 kilogramme de nourriture (ONAB,Bejaïa).

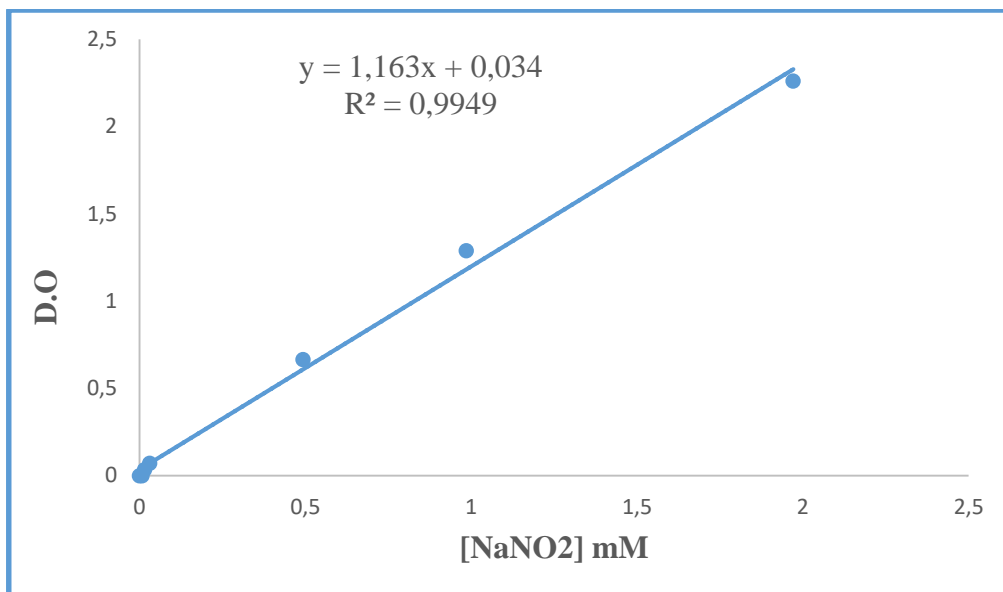
Matière alimentaire	Quantité en g/kg d'aliment	Pourcentage (%)
Mais	620	62
Soja	260	26
Phosphate	16	1.6
Calcaire	9	0.9
Cellulose	10	1.0
Minéraux	10	1.0
Vitamines	10	1.0



Annexe 07 : Courbe d'étalonnage de la BSA (1mg/mL).



Annexe 08 : Courbe d'étalonnage de la Vit C (1mg/mL).



Annexe 09 : Courbe d'étalonnage du nitrite de sodium (NaNO₂).

PRODUCTION
SCIENTIFIQUE

ARTICLE



Original Research

Efficacy of *Allium sativum* oil to alleviate tebuconazol-induced oxidative stress in the liver of adult rats

Salma Berrouague, Meriem Rouag, Taha Khaldi, Amel Boumendjel, Mahieddine Boumendjel, Faiza Taibi, Mahfoud Messarah*

Laboratory of Biochemistry and Environmental Toxicology, Faculty of Sciences, University of Badji Mokhtar, BP 12 Sidi Amar, Annaba, Algeria

*Correspondence to: mahfoud.messarah@univ-annaba.dz

Received February 20, 2019; Accepted November 6, 2019; Published December 31, 2019

Doi: <http://dx.doi.org/10.14715/cmb/2019.65.8.5>

Copyright: © 2019 by the C.M.B. Association. All rights reserved.

Abstract: The present study focused on the protective efficacy of *Allium sativum* oil (ASO) against tebuconazol (TEB)-induced oxidative stress in the liver of adult rats. Thirty-two rats were randomly divided into four groups of eight each: group I served as control rats, group II was treated with TEB (100 mg/kg bw), group III received ASO (5ml/kg bw). The animals of group IV were treated with TEB and ASO, during 4 weeks. The obtained results showed that TEB induced a significant change of some hematological parameters, including red blood cells (RBC), haemoglobin content (Hb), haematocrit (Ht), white blood cells (WBC) and platelet (Plt) compared to the control group. Moreover, while the total cholesterol levels and the activities of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH) and γ -Glutamyltranspeptidase (γ GT) significantly increased due to TEB administration, the concentrations of plasma total protein, albumin and triglyceride considerably decreased. Furthermore, the exposure to TEB significantly increased the malondialdehyde (MDA), protein carbonyl (PCO) and advanced oxidation protein products (AOPP) levels and decreased glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione-S-transferase (GST) activities in the hepatic tissues. The results were confirmed by the histological impairments. Besides, the co-administration of ASO improved the status of all studied parameters. Therefore, our investigation revealed that ASO had protective effects against TEB-induced liver injury, which could be attributed to its phenolic compounds.

Key words: Tebuconazole; *Allium sativum*; Hepatotoxicity; Oxidative stress.

Introduction

The use of pesticides in agriculture remains the most effective method for the protection of plants and animals from a large number of pests (1). Tebuconazole is a very effective fungicide used for the control of mildew and rust on wheat, barley, rice, fruits and vegetables (2). It belongs to the group of triazole fungicides, whose mode of action is by the inhibition of the activity of lanosterol 14 α -demethylase (CYP51), resulting in the membrane disruption and subsequent inhibition of cell growth (2,3). The disadvantages of fungicides include their toxicity to humans, animals, useful plants and the persistence (long life) of some of these chemicals in the environment (4). TEB is a potent xenobiotic to which exposure can cause metabolic alterations and the death of different organisms (5). The exposure to TEB produces immunological neurobehavioral and neuropathological deficiency (6) and cause cancer, reproductive and development toxicity, as well as various other effects. The most sensitive endpoints used for risk assessment include the effects on the liver, spleen and the adrenal glands (7).

TEB could cause oxidative stress in many organisms, leading to the production of free radicals (8). Cells have enzymatic and non-enzymatic scavenger systems against these free radicals (9). The imbalance between defense and free radical production systems causes lesions at the level of the body cells (10).

To counteract oxidative stress, endogenous and exogenous antioxidants play a crucial role to remove ROS. They act as free radical scavengers preventing cells and tissue damage. Exogenous antioxidants obtained from natural sources are considered relatively safe and without undesirable side effects (11)

Many medicinal plants have interesting biological and pharmacological activities and are used as therapeutic agents (12). Garlic (*Allium sativum* L.) belongs to the Alliaceae family (13). It is a popular spice in cooking and it is widely used as a medicinal herb across the globe. Garlic and its components have a variety of beneficial biological activities. It has been proved to elicit antimicrobial, antihypertensive, hypolipidemic, hepatoprotective, antidiabetic, and insecticidal properties (14). The immunomodulation and antitumor activities of garlic have also been reported (15). Studies carried out on garlic have reported the presence of two main classes of antioxidant components, namely flavonoids and polyphenolics. These are likely to play an important role in the widely demonstrated biological effects of garlic (16).

Garlic oil behaves as a nutraceutical compound, with numerous applications in food and pharmaceutical industries such as the flavoring some cuisine such as salads, and sauces; reducing blood pressure, and preventing cancer and cardiovascular diseases through reducing serum LDL cholesterol and triglyceride (17).

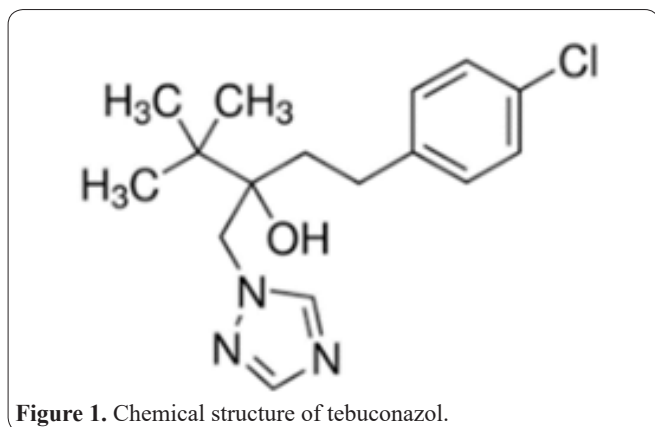


Figure 1. Chemical structure of tebuconazol.

In addition, this oil has divergent effects on the target organ and host tissues that reflect its modulatory role in cell proliferation. It has been reported to scavenge free radical species (18), and used to protect humans against oxidative stress. Garlic possesses potential health-promoting effects due to its high phenolic phytochemical content. It is also a source of natural antioxidants (19). The objective of this work is to study the protective effect of *Allium sativum* against tebuconazole-induced oxidative damage and hepatotoxicity in adult male rats.

Materials and Methods

Chemicals

Tebuconazole ($C_{16}H_{22}ClN_3O$) is a triazole fungicide (Figure 1); CAS chemical name: [(RS)-1-p-chlorophenyl]-4, 4-dimethyl-3-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl) pentan-3-ol]. The commercial formulation studied in the present work was Medalion[®]. The latter contained 430g/L of tebuconazole as the active ingredient, and was produced by Rotam Agrochemical (HK) Co. Ltd. All other chemical products used in this study were purchased from Sigma Chemical Co. (StLouis, France).

Plant material

A. Sativum oil was obtained from a local commercial market (it was produced by El Captain Company-CAP PHARM- grow and extracted in Egypt).

Total phenolic contents

The total phenolic content was measured with the Folin-Ciocalteu reagent according to the procedure described by Bouaziz *et al* (20). Gallic acid was used as a reference standard, and the results were expressed as milligram gallic acid equivalent (mg GAE/g ASO).

Total flavonoid contents

Flavonoid contents was determined by the method of Zhishen (21). Flavonoid content was estimated using catechin as a standard, analytical results are expressed in milligrams of catechin equivalents (mg CE/g ASO).

Determination of total condensed tannin contents

The total amount of condensed tannin was determined spectrophotometrically according to Hagerman and Butler (22). The amount of condensed tannins was estimated using catechin as a standard, and the analytical results were expressed in milligrams catechin equivalents (mg CE/g ASO).

Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity assay

The antioxidant activity of ASO was firstly evaluated by monitoring its ability in quenching the stable free radical DPPH. The radical scavenging activity of ASO against DPPH free radicals was measured using the method of Bouaziz *et al* (23). Ascorbic acid was used as a positive control. The DPPH radical scavenging activity was calculated according to the following equation: PI (% inhibition) = $100 (A_T - A_S) / A_T$. Where A_T is the absorbance of the control (total) and A_S is the absorbance in the presence of the extract (sample).

Total antioxidant capacity assays

The total antioxidant capacity (TAC) was determined using the method of Prieto *et al* (24). The TAC was expressed as mg vitamin C equivalent (mg Vit C/g ASO).

The TAC of ASO was also estimated by ABTS method according to Turoly *et al* (25). The stock solution of the ABTS radical was prepared by dissolving 38.4mg of 2,2- azinobis (3-ethylbenzthiazoline-6-acid) (ABTS) in potassium persulfate solution (2.4mM). The working solution was obtained by diluting the stock solution of the ABTS radical cation with methanol to obtain an absorbance of 0.7 ± 0.002 at 730 nm.

Animals and experimental procedure

Thirty-two Wistar male rats with body weight 290 ± 20 g were used in this study. They were obtained from Pasteur institute (Algiers, Algeria), and acclimated for 2 weeks prior to experimentation. They were housed in cages at $25 \pm 2^\circ C$ and provided with water and standard diet. The rats were randomly divided into four groups of eight each.

- Group I (C): served as controls.
- Group II (TEB): received, via force-feeding with TEB (100mg/kg bw).
- Group III (ASO): received, via force-feeding with ASO (5ml/kg bw).
- Group IV (TEB+ASO): received both TEB and ASO.

The dose of TEB used in this study represented 1/17 of LD50 (1700mg/kg bw). This dose was used by previous investigations since it is toxic but not lethal to rats (8). The dose of ASO used in our study and in other findings gave high protection against stress conditions in several tissues (18).

Samples preparation

Blood collection

At the end of the experiment, all rats were fasted overnight and sacrificed by cervical decapitation. Prior to sacrifice, blood was collected and divided into two portions. The first portion was transferred into tubes containing EDTA for the determination of hematological parameters. While the remaining blood was placed into tubes containing heparin and centrifuged at 3000 rpm for 15min to separate the plasma for biochemical analyses.

Preparation of liver homogenates

Livers were rapidly excised and washed in 0.9% NaCl solution, blotted with filter paper, and immediate-

ly homogenized in trisbuffer solution (TBS: 50mm Tris, 150mm NaCl, pH 7.4) under ice cold conditions. The liver homogenate was later centrifuged at 10.000rpm for 15 min at 4°C and the resultant supernatant was stored at -20°C for the assay of oxidative stress related parameters.

Hematological parameters

Blood samples in EDTA tubes analyzed for hematological parameters (RBC, WBC, Hb, HT and PLT) were determined by electronic hematological counter (ERMA INC, model PCE-210N).

Biochemical parameters

The determination of protein, bilirubin, albumin and enzymes markers in plasma were measured using commercial colorimetric kits. The activities of transaminases (ALT and AST), ALP, γ GT and LDH were assayed using commercial kits from Spinreact (SPINREACT.S.A/SAU. Ctra. Santa Coloma, 7 E-17176SANT ESTEVE DE BAS (GI) SPAIN).

Protein assays

Protein content in liver was measured spectrophotometrically at 595 nm according to the method of Bradford (26), using bovine serum albumin as a standard.

Estimation of lipid peroxidation levels

The lipid peroxidation (LPO) activity was measured by the method of to Buege and Aust (27). The malondialdehyde (MDA) values were expressed as nomoles of MDA/mg protein.

Determination of advanced oxidation protein product levels

The liver levels of advanced oxidation protein products (AOPP) were determined according to the method of Kayali *et al* (28). The AOPP concentration in each sample was calculated using the extinction coefficient of 261 $\text{cm}^{-1}\text{mM}^{-1}$. The results were expressed as nmoles/mg protein.

Determination of protein carbonyl levels

Protein carbonyl (PCO) was measured using the DNPH method according to Reznick and Packer (29). The PCO content was expressed as nmoles/mg protein. The results were measured spectrophotometrically at 370 nm.

Estimation of antioxidant enzymes activities

Glutathione peroxidase (GPx) activity was measured according to the procedure of Flohe and Gunzler (30). The enzyme activity was expressed as micromoles of GSH oxidized/min/mg protein.

The superoxide dismutase (SOD) activity was evaluated using the method of Asada *et al* (31). A unit of SOD is defined as the amount of enzyme that inhibits by 50% photoreduction of nitro bleu tetrazolium (NBT). Enzyme activity was expressed as U/mg of protein.

Catalase activity (CAT) was measured according to the method of Aebi (32). The change of H_2O_2 absorbance in 1min was measured at 240 nm. Catalase activity was calculated and expressed in $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ protein.

Glutathione-S-transferase (GST) activity was measured according to Habig *et al* (33). The extinction coefficient used for GSH-CDNB was 9.6 $\text{mM}\cdot\text{cm}$. The activity was expressed as nmol CDNB/min/mg protein.

Evaluation of reduced Glutathione levels

Reduced glutathione (GSH) activity was measured by the method of Weekbeker and Cory (34). The total GSH content was expressed as nanomoles GSH/mg of protein. The absorbance was recorded at 412 nm.

Measurement of vitamin C levels

The determination of vitamin C content in the liver tissue was performed as described by Jacques-Silva *et al* (35). The absorbance was measured at 540nm, and the results were expressed as micromoles/g tissue.

Determination of plasma nitric oxide levels

The nitric oxide (NO) level was determined by the method of Green *et al* (36). The nitrite concentration in the samples was determined with ELISA reader (nindray MR-96 A). The results were expressed as micromoles/mg protein.

Histopathological examination

Immediately after sacrifice, small pieces of liver from rats in all studied groups was fixed in formol solution, then passed through ethanol and xylene series kept in paraffin in a stove (Leica TP 1020) before being embedded in paraffin blocks (Leica EG 1160). Paraffin blocks were sliced at 3-4 μm (Leica RM 2125 RTS), stained with hematoxyline and eosin and examined by light microscope (37).

Statistical analysis

The results are presented as the mean \pm SD for five rats per group. The statistical significance of difference between groups was analyzed by Student's test (Microsoft® Office Excel® 2010). The level of significance was set at $p \leq 0.05$.

Results

Antioxidant activity of *Allium sativum* Oil

In this study, ASO was analyzed for its proximate composition and antioxidant activity (Table 1). The results showed that ASO contained 1.67mg of the total polyphenols, 1.61 mg of flavonoids and 0.95 mg of con-

Table 1. Amounts of total phenols content, total flavonoids and condensed tannins levels, antiradical DPPH, ABTS and TAC in *Allium sativum* oil.

Parameters	Contents
Total phenolic content (mg GAE/100 g of ASO)	1.67 \pm 0.05
Total flavonoid content (mg QAE/g ASO)	1.61 \pm 0.02
50 % scavenging concentration (mg/ml) on DPPH radical	72.50 \pm 2.42
Condensed tannins (mg CAE/g NSO)	0.95 \pm 0.07
ABTS [TEAC]	1.17 \pm 0.02
TAC (mg of ascorbic acid E/ g ASO)	1.50 \pm 0.16

GAE: gallic acid equivalent, QAE:quercetin acid equivalent, CAE: catechin acid equivalent.

Table 2. Initial and final body weights, absolute and relative liver weights. Food and water intake of control and rats treated with TEB, ASO, or their combination (TEB+ASO) during 4 weeks.

Parameters	Control	TEB	ASO	TEB+ASO
Initial body weight (g)	297.14±21.2	297.12±21.54	294.14±12.68	296.13±21.69
Final body weight (g)	331.6±12.3	288.8±12.39***	322.4±9.63	316.4±20.19##
Absolute liver weight (g)	7.73±0.47	11.02±1.32***	8.59±0.56	8.84±1.34##
Relative liver weight (g/100g bw)	2.33±0.18	3.83±0.57***	2.67±0.22	2.82±0.58*##
Food intake (g/day/rat)	19.56±0.87	14.96±3.66*	17.18±4.25	16.81±1.74*
Water intake (mL/day/rat)	24.9±0.62	28.9±3**	21.45±2.01	28.66±5.87

Values are expressed as means±SD; n=8 for each treatment group. Significant difference: (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001) compared with control group, (##p<0.01) compared with TEB+ASO.

densified tannins. The estimation of antioxidant activity DPPH revealed an IC₅₀ value of 72.5 µg/ml. However, the value of ASO on ABTS radical-scavenging activity was 1.17mg with the total capacity antioxidant (TAC) equal to 1.5 mg.

Body, absolute and relative liver weight, food and water intakes

During the experimental period, no observed mortality was detected in any experimental group. Moreover, while the daily food intakes decreased in TEB-treated rats, the daily water consumption increased in rats treated with TEB compared to the control group. A significant decrease of body weight was observed in TEB-treated group. Absolute and relative liver weights increased in TEB-treated group compared to the control (Table 2).

Hematological estimations

Table 3 shows the hematological parameters under the different experimental procedures. The TEB treated

rats showed lower RBC, HB and HT compared with control group. Although TEB significantly raised WBC, no significant change was observed in PLT when compared with the control. The co-administration of ASO restored the hematological parameters to near normal values when compared to TEB-treated groups.

Biochemical analysis

The toxicology results of TEB on biochemical parameters are presented in Table 4. The total cholesterol levels and the activities of AST, ALT, ALP, LDH and was increased in rats treated with TEB compared to normal group. Albumin, total protein and triglyceride concentrations decreased in TEB treated group compared to the control. Supplementation of ASO of the TEB-treated group produced recovery in the above mentioned biochemical variables.

NO levels

In this study, plasma nitric oxide significantly increased compared with the controls (Table 4). Interest-

Table 3. Change in hematological parameters of control and rats treated with TEB, ASO or their combination (TEB+ASO) after 4-week treatment.

Parameters	Control	TEB	ASO	TEB+ASO
RBC (10 ⁶ /µL)	10.48±0.75	9.26±0.93**	10.3±0.67	10.15±0.48#
WBC (10 ³ /µL)	7.66±1.00	12.6±1.21***	8.08±0.97	9.84±2.00*##
Hb (g/dL)	21.12±1.74	17.26±1.89**	20.84±2.02	19.22±1.55*#
HT (%)	50.48±4.34	42.58±4.47**	45.34±5.15	48.4±2.96#
PLT (10 ³ /µL)	555.4±59.12	515.6±33.93	592.6±58.09	551.8±33.16

RBC: red blood cell; WBC: white blood cell; Hb: Hemoglobin; Ht: Haematocrit; PLT: Platelet. Values are expressed as means±SD; n=8 for each treatment group. Significant difference: (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001) compared with control group, (#p<0.05, ##p<0.01) compared with TEB+ASO.

Table 4. Serum markers of control and rats treated with TEB, ASO, or their combination (TEB+ASO) after 4-week treatment.

Parameters	Control	TEB	ASO	TEB+ASO
AST (U/L)	154.8±18.89	183.2±16.05**	132.4±9.44	152.2±27.95#
ALT (U/L)	54.6±7.86	83.2±8.37***	52.2±6.79	64.6±8.01*##
ALP (U/L)	17.4±45.61	329.8±50.98***	157.6±54	230.4±69.76##
LDH (U/L)	847±185.20	1073.4±134.88*	890.4±17.70	855.2±158.51#
GGT (U/L)	2.8±2.28	6.6±2.07**	4.6±1.94	5.00±1.87##
Total bilirubin (mg/L)	0.46±0.54	1.6±0.89	0.4±0.54	1.00±0.1
Total protein (g/L)	84.4±3.28	76.6± 3.13**	82± 2.54	81.6±2.07##
Albumin (g/dL)	27.4±1.67	21±2***	27.2±0.83	25±1.22*##
NO (µmoles/g protein)	1.05±0.34	1.84±0.09**	1.11±0.35	1.52±0.15*##

AST: Aspartate aminotransferase; ALT: Alanine aminotransferase; LDH: lactate dehydrogenase; ALP: alkaline phosphatase; γGT: γ-Glutamyltranspeptidase; NO: Nitric oxide. Values are expressed as means±SD; n=8 for each treatment group. Significant difference: (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001) compared with control group, (#p<0.05, ##p<0.01) compared with TEB+ASO.

ingly, the co-administration of ASO modulated the NO levels in liver homogenate.

Antioxidant enzyme activities

GPx, SOD, CAT and GST activities were presented in Table 5. All the antioxidant enzyme activities decreased significantly in the TEB-treated group compared to the control. However, ASO conferred a protective effect because rats co-treated with ASO had significantly increased antioxidant enzyme activities when compared to the control.

MDA, AOPP, PCO, GSH and vitamin C levels

In the present study, the levels of MDA, AOPP and PCO were significantly elevated in TEB-treated group (Table 6). The administration of ASO ameliorated MDA, AOPP and PCO levels in (TEB+ASO) group compared to that of TEB. The levels of GSH and vitamin C decreased significantly in the TEB-treated group compared to the control. However, the supplementation of ASO has significantly restored GSH and vitamin C compared to the TEB-treated group (Table 6).

Histopathological results

Under light microscope, the histopathological analyses of liver tissue of rats exposed to TEB (Table 7 and Fig. 2) revealed an inflammatory cell infiltration (black arrow) with degenerative changes in hepatocytes (white arrow) and cell apoptotic (yellow arrow) (Fig.2B). Furthermore, the combined treatment of TEB+ASO showed inflammatory cell infiltration (black arrow) and normal cells morphology compared to TEB-treated animals (Fig. 2D). On the other hand, the liver of control

(Fig. 2A) and liver of ASO-treated animals showed normal hepatic tissue (Fig.2C).

Discussion

The preliminary phytochemical analysis revealed that different active constituents are present in ASO, such as phenols, flavonoids and condensed tannin. Phe-

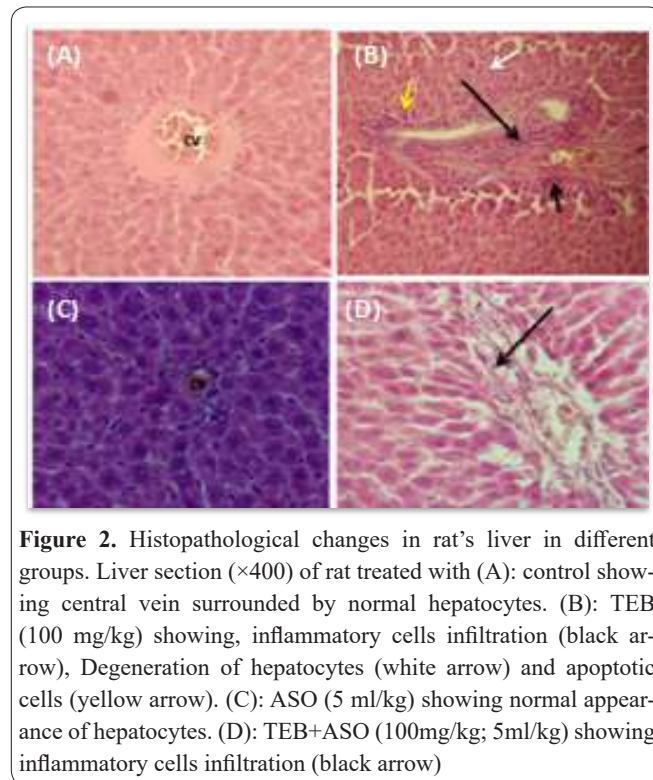


Figure 2. Histopathological changes in rat's liver in different groups. Liver section (×400) of rat treated with (A): control showing central vein surrounded by normal hepatocytes. (B): TEB (100 mg/kg) showing, inflammatory cells infiltration (black arrow), Degeneration of hepatocytes (white arrow) and apoptotic cells (yellow arrow). (C): ASO (5 ml/kg) showing normal appearance of hepatocytes. (D): TEB+ASO (100mg/kg; 5ml/kg) showing inflammatory cells infiltration (black arrow)

Table 5. Antioxidant enzymes activities in liver of control and rats treated with TEB, ASO, or their combination (TEB+ASO) after 4-week treatment.

Parameters	Control	TEB	ASO	TEB+ASO
GPx (µmoles GSH/min/mg prot.)	3.9±0.86	1.73±0.7***	4.42±1.8	2.82±0.62*##
SOD (unit/mg prot.)	46.77±2.51	43.24±2.89*	45.91±3.95	45.71±3.95
Catalase (µmol/min/mg prot.)	76.26±4.13	67.68±3.97**	76.01±4.56	73.01±4.21#
GST (nmoles CDNB/min/mg prot.)	0.12±0.03	0.05±0.02*	0.1±0.01	0.09±0.01#

GPx: Glutathione peroxidase, SOD: superoxide dismutase, GST: Glutathione-S-transferase.

Table 6. Oxidative stress parameters in liver of control and rats treated with TEB, ASO, or their combination (TEB+ASO) after 4-week treatment.

Parameters and treatments	Control	TEB	ASO	TEB+ASO
MDA (nmol/mg prot)	8.72±2.19	15.45±3.8**	9.42±2.83	11.35±3.64#
AOPP (nmol/mg prot.)	7.28±1.22	11.87±4.49*	7.58±3.6	7.42±1.95#
PCO (nmol/mg protein)	30.98±9.69	44.32±5.18**	32.57±5.81	40.24±0.39*#
GSH (nmol/mg prot)	2.17±0.25	1.16±0.41***	2.08±0.36	1.76±0.43*#
Vitamin C (µmol/mg prot.)	0.17±0.004	0.13±0.01**	0.16±0.005	0.16±0.009#

MDA: malondialdehyde, AOPP: advanced oxidation protein products, PCO: protein carbonyls, GSH: reduced glutathione. Values are expressed as means±SD; n=8 for each treatment group. Significant difference: (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001) compared with control group, (#p<0.05) compared with TEB+ASO.

Table 7. Histopathological examination of liver tissue of control and rats treated with TEB, ASO, or their combination (TEB+ASO) after 4-week treatment.

Parameters and treatments	Control	TEB	ASO	TEB+ASO
Degeneration of hepatocytes	-	++	-	-
Inflammatory cells infiltration	-	+++	-	+
Apoptotic cells	-	+	-	-

(-) indicates normal, (+) indicates mild, (++) indicates moderate and (+++) indicates severe.

nolic compounds, in general, and flavonoids, in particular, have the ability to provide protection against oxidative stress. However, the presence of flavonoids and phenolic compounds in ASO could be considered responsible for converting antioxidant ability. The stable DPPH radical is widely used to evaluate the free radical-scavenging activity in many plants (38). The antioxidant activities of *Allium sativum* were determined by ABTS and DPPH radical scavenging assays. Therefore, the protective effects of *Allium sativum* are due to their antioxidant and radical scavenging capacities (39-41).

The exposure to TEB caused a significant decrease in the body weight gain, which could be explained either by the decrease in food consumption and/or by the toxicity induced by this toxicant (42). However, we observed a significant increase in water consumption as shown in TEB-treated groups, which could be justified by the mechanism to counteract the toxicity induced by this fungicide (11). The additional effects of TEB treatment revealed an increase in the relative liver weight. This elevation might be due to the edema observed in the liver tissue and a marker of inflammation. In fact, an increase in the absolute liver weight and relative liver weight can be caused by some pesticides in experimental animals (43,44).

The hematological findings showed a significant decrease in RBC, Hb and Ht levels, indicating haemolysis and shrinkage of RBC by TEB, which results in rat anemia. Our findings suggest that the decrease in RBC counts occurred due to the excessive damage to the erythrocytes or inhibition of erythrocyte formation, which is in accordance with the findings reported by Kasmir *et al* (45), Hossen *et al* (46). Moreover, WBC count is a marker of systemic inflammation, whose level increased in the group treated with TEB, which might be an indicative of the animals defense immune system (47). It could also be due to the tissue damage and necrosis caused by the pesticide (48). Moreover, the treatment of the rats with ASO rescinded the induced anemia by TEB, which may be due to the antioxidant effect of ASO (49).

The measurement of plasma biochemical parameters showed that ALT, AST, γ GT, LDH, and ALP increased in TEB-treated rats. The increase in the activities of these enzymes indicates a dysfunction of liver tissue. This elevation reflecting hepatocellular injury and necrosis led to the damage of hepatocytes (50).

Interestingly, the treatment with ASO reduced the activities of these enzymes. The antioxidants in ASO are able to counteract or minimize the undesirable effects induced by TEB (16). Furthermore, the albumin and total protein levels significantly decreased in TEB-treated rats. This reduction may be due to the decrease in the functional ability of liver cells under the effect of TEB. Moreover, the reduction of albumin means the low ability to synthesize protein in the liver (51).

In addition, TEB treatment caused significant increase in the total cholesterol contents. This increment may be based upon the effect of pesticides on the cell membrane permeability of liver. Therefore, the increment in total cholesterol contents may be due to the hepatic bile ducts blockage that stops or reduces the secretion of cholesterol into the duodenum portion of the small intestine. The enhanced levels of cholesterol

may be a sign of hepatic damage. Increased cholesterol level has been recorded by Badgular *et al* (52) in rats exposed to Bendiocarb an insecticide (53). However, a significant decrease in the concentration of triglyceride was observed in TEB-treated rats. Our study is in accordance with previous findings which denoted that rats exposed to an insecticide (54).

Oxidative stress induction involves an excessive production of reactive oxygen species (ROS), resulting from impaired balance between the ROS generation and antioxidant defense capability, which could affect lipid peroxidation and membrane integrity. Many pesticides were found to induce oxidative stress, leading to the generation of free radicals and alternation of antioxidant or oxygen free radical scavenging enzyme system (4). MDA levels are often measured to determine the degree of lipid peroxidation in the cell (55). In the present study, TEB induced lipid peroxidation in the liver of adult rats as revealed by a marked elevation in MDA. This might be the result of an increased generation of free radicals in the liver tissue of rats (56).

AOPP is another marker of oxidative stress and protein oxidation (8). Protein carbonylation is an indicator of the oxidative modification of proteins. Besides, ROS altered protein and led to the formation of carbonyl, which is non-reversible, causing conformational changes and decreases in the enzyme catalytic activities, resulting in the breakdown of proteins by proteases. The PCO levels were also found to increase in the TEB-treated rats. These results are in agreement with Chaâbane *et al* (11). In our study, TEB treatment produced the elevation in the levels of AOPP and PCO. This increase could be justified by the generation of the reactive species of oxygen, as reported by Ben Saad *et al* (6). ASO protected the hepatic cell from oxidative damage induced by TEB, which was demonstrated by inhibiting the elevation of MDA, AOPP and PCO levels in intoxicated groups. This might be attributed to the free radical scavenging property of the oil (57,58).

Antioxidant enzymes (CAT, SOD, GPx, and GST) are considered to be the first line of cellular defense against oxidative damage (59). A redox balance between prooxidants and antioxidants is essential for the normal cellular functioning (52). The present study has shown a decrease of antioxidant enzyme in TEB-treated rats. These decreased activities evidently indicate that TEB can increment free radicals produced in the oxidative stress process (53). GSH is an intracellular reductant that protects cells against free radicals, peroxides and other toxic compounds. In addition, GSH is central to the cellular antioxidant defenses, which acts as an essential cofactor for antioxidant enzymes including GPx and GST (60).

Moreover, GSH and vitamin C are an effective reductive non-enzymatic antioxidant that provides a secondary line of defense against intracellular harmful effects of free radicals (61). GSH is able to regenerate the most important antioxidants, vitamins C and E (62). Regarding vitamin C, a soluble vitamin with effective properties in scavenging free radicals (45). In the present study, TEB treatment caused a significant decrease in the level of GSH in liver tissues. The reduction in GSH is indicative of oxidative stress (63). The obtained results also exhibited a significant decrease in vitamin C

level, which may be due to the depletion of GSH since it is directly involved in recycling vitamin C (56). The co-treatment with ASO enhanced the enzymatic and non-enzymatic antioxidant status of animals exposed to TEB. Polyphenol is a powerful antioxidant compound present in ASO. Mukthamba and Srinivasan (64) have demonstrated that ASO exerts an antioxidant action by scavenging ROS, indicating that this oil participated in the reduction of TEB toxicity.

Nitric oxide (NO), a potent vasodilator synthesized by the endothelium which plays a pivotal role in modulating endothelial function (65). However, in this work, TEB treatment increased plasma NO concentrations of the animals. The increment of this parameter could be explained by an increase in the level of free radicals chronic inflammation and stimulation of the immune system (66). In contrast, the co-treatment with ASO caused a significant decrease of NO level induced by TEB exposure. The obtained results were congruent with those found by Savas (57).

In this study, the hematological and biochemical findings were confirmed by the histopathological changes in the liver. The administration of TEB resulted in inflammatory cells infiltrates as well as degenerated hepatocytes, necrosis and the presence of apoptotic cells. These results are in accordance with those of previous studies Abdelhady *et al.* (67). These alterations could result from ROS generation that interacted with biological target molecules, thus causing liver injury and TEB-induced membrane distribution (6).

The co-treatment of ASO lessened these histopathological alterations induced by TEB as evidenced by the restoration of the architecture of hepatic tissue almost similar to control liver, which could be related to the various natural antioxidant agents of the ASO (16,68).

In conclusion, the present study have demonstrated that tebuconazole intoxication induces oxidative stress in hepatic tissue via enhancing free radicals production. The treatments with ASO ameliorate this TEB-induced hepatotoxicity through improving the rat antioxidant status and modulating oxidative stress.

Acknowledgments

The present work was supported by DG-RSDT (General Directorate of Scientific Research and Technological Development-Algeria) via the Laboratory of Biochemistry and Environmental Toxicology, Faculty of Sciences, University of Badji Mokhtar-Annaba, Algeria. They also wish to extend their thanks to Mrs. Leila MAHFOUDHI, Emeritus Teacher of English at the Sfax Faculty of Sciences, for having proofread and polished the language of the manuscript.

Interest conflict

The authors reported no potential conflict of interest.

Author's contribution

All authors contributed equally to this work.

References

1. Jaiswal SK, Gupta VK, Ansarib MD, Siddiqi N, Sharma B. Vitamin C acts as a hepatoprotectant in carbofuran treated rat liver slices in vitro. *Toxicol Rep*, 2017; 4, 265-273.

2. Sivikova K, Dianovsky J, Holeckova B, Galdikova M, Kolesarova V. Assessment of cytogenetic damage in bovine peripheral lymphocytes exposed to in vitro tebuconazole-based fungicide. *Chemosphere*, 2013; 92, 555-562.
3. Qi S, Liu X, Zhu L, Chen X, Wang C. Racemic, R-, and S-tebuconazole altered chitinase and chitobiase activity of *Daphnia magna*. *J Environ Sci Health Part B*, 2018; 53, 171-175.
4. Sakr SA, Shalaby SY. Carbendazim-induced testicular damage and oxidative stress in albino rats: ameliorative effect of licorice aqueous extract. *Toxicol Ind Health*, 2014; 30, 259-267.
5. Joshi SC, Gulati N, Sharma B, Sharma P. Effects of tebuconazole (A fungicide) on reproduction of male rats. *Int. J. Pharm. Res. Health. Sci.* 2016, 4, 1489-94.
6. Ben Saad H, Feki A, Boudawara O, Hakim A, Ben Amara I. Effects of selenium on tebuconazole-induced hepatotoxicity in adult rats. *J Pharmacogn Phytochem*, 2017; 6, 105-109.
7. Health Canada Pest Management Regulatory Agency (HCPM-RA). Canada. 2016; Available from: https://www.canada.ca/content/dam/hc-sc/migration/hc-sc/cps-spc/alt_formats/pdf/pest/part/consultations/prd2016-33/PRD2016-33-eng.pdf
8. Ben Saad H, Kammoun I, Zeghal K, Ben amara I, Mongé C, Hakim A. Effects of selenium on tebuconazole-induced nephrotoxicity in adult rats. *J I M Sfax*, 2017; 17, 35-42.
9. Anwar M, Meki AR. Oxidative stress in streptozotocin induced diabetic rats: effects of garlic oil and melatonin. *Com Biochem Physiol MollIntegr Physiol*, 2003; 135, 539-547.
10. Zemmouri H, Sekiou O, Ammar S, El Feki A, Bouaziz M, Mes-sarah M, Boumendjel A. Urticadioica attenuates ovalbumin-induced inflammation and lipid peroxidation of lung issues in rat asthma model. *Pharm Biol*, 2017; 55, 1561-1568.
11. Chaâbane M, Koubaa M, Soudani N, Elwej A, Grati M, Jammoussi K, Boudawara T, Ellouze Chaabouni S, Zeghal N. Nitrari-aretusa fruit prevents penconazole-induced kidney injury in adult rats through modulation of oxidative stress and histopathological changes. *Pharm Biol*, 2017; 55, 1061-1073.
12. Chekchaki N, Khaldi T, Rouibah Z, Rouag M, Sekiou O, Mes-sarah M, Boumendjel A. Anti-inflammatory and antioxidant effects of two extracts from *Pistacia lentiscus* in liver and erythrocytes, in an Experimental Model of Asthma. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 2017; 24, 77-84.
13. Martinez-Casas L, Lage-Yusty M, Lopez-Hernandez J. Changes in aromatic profile, sugars and bioactive compounds when purple garlic is transformed into black garlic. *J Agric Food Chem*, 2017; 65, 10804-10811.
14. Ragavan G, Muralidaran Y, Sridharan B, Nachiappa GR, Pragasa-m V. Evaluation of garlic oil in nano-emulsified form: Optimization and its efficacy in high-fat diet induced dyslipidemia in Wistar rats. *Food Chem Toxicol*, 2017; 105, 203-213
15. Singh UP, Prithiviraj B, Samra BK, Rajesh NG, Viswanathan P. Role of garlic (*Allium sativum* L.) in human and plant diseases. *Indian J Exp Biol*, 2001; 39, 310-322.
16. Neir M, Ben Salah GH, Kamoun H, Makni Ayadi F, Khabir A, El Feki A, Saoudi M. Histopathological, oxidative damage, biochemical, and genotoxicity alterations in hepatic rats exposed to deltamethrin: modulatory effects of garlic (*Allium sativum*). *Can J Physiol Pharmacol*, 2016; 94, 571-578.
17. Raf A, Nadjafi MS. Physicochemical characteristics of garlic (*Allium sativum* L.) oil: Effect of extraction procedure. *Int J Nutr Food Sci*, 2014; 3, 1-5.
18. Hassan H, Hafez HS, Zeghebar F. Garlic oil as a modulating agent for oxidative stress and neurotoxicity induced by sodium nitrite in male albino rats. *Food Chem Toxicol*, 2010; 48, 1980-1985.
19. Chen S, Shen X, Cheng S, Li P, Du J, Chang Y, Meng H. Evaluation of garlic cultivars for polyphenolic content and antioxidant

- properties. Plos One, 2013; doi:10.1371/journal.pone.0079730.
20. Bouaziz M. Stability of refined olive oil and olive-pomas oil added by phenolic compounds from olive leaves. Eur. J. Lipid. Sci. Technol. 2010; 112, 894-905.
21. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem, 1999; 64, 555-559.
22. Hagerman AE, Butler LG. Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. J Agric Food Chem, 1978; 26, 809-12.
23. Bouaziz M, Sayadi S. Isolation and evaluation of antioxidants from olives leaves of a Tunisia. Eur J Lipid Sci Technol, 2005; 107, 497-504.
24. Prieto P, Pineda M, Anguilar M. Spectrophotometric quantification of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. Anal Biochem, 1999; 269, 337-341.
25. Turoli D, Testolin G, Zanini R, Bellu R. Determination of oxidative status in breast and formula milk. Acta Paediatrica, 2004; 93, 1569-1574.
26. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem, 1976; 72, 248-254.
27. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol, 1978; 52, 302-330.
28. Kayali R, Cakatay U, Akcay T, Atlug T. Effect of alpha-lipoic acid supplementation on markers of protein oxidation in post-mitotic tissues of ageing rat. Cell Biochem Funct, 2006; 24, 79-85.
29. Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl. Methods Enzymol, 1994; 233, 357-563.
30. Flohe L, Gunzler WA. Assays of glutathione peroxidase. Methods Enzymol, 1984; 105, 114-121.
31. Asada K, Takahashi M, Nagate M. Assay and inhibitors of spinach superoxide dismutase. Agric Biol Chem, 1974; 38, 471-473.
32. Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol, 1984; 105, 121-126.
33. Habig WH, Pabst MJ, Jacobi WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. J Biol Chem, 1974; 249, 7130-7139.
34. Weekbeker G, Cory JG. Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-dependent mouse leukemia L1210 cells in vitro. Cancer Letters, 1988; 40, 257-264.
35. Jacques-Silva MC, Nogueira CW, Broch LC. Diphenyldiselenide and ascorbic acid changes deposition of selenium and ascorbic acid in liver and brain of mice. Pharmacol Toxicol, 2001; 88, 119-125.
36. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids. Anal Biochem, 1982; 126, 131-138.
37. Hould R. Techniques d'histopathologie et de cytopathologie. Ed Maloine, 1984; 19, 225-227.
38. Bouasla I, Bouasla A, Boumendjel A, Messarah M, Abdennour C, Boulakoud MS, El Feki A. Nigella sativa oil reduces aluminium chloride-induced oxidative injury in liver and erythrocytes of rats. Biol Trace Elem Res, 2014; 162, 252-261.
39. Ramkissoon JS, Mahomoodally MF, Ahmed N, Subratty AH. Antioxidant and anti-glycation activities correlates with phenolic composition of tropical medicinal herbs. Asian Pac J Trop Med, 2013; 6, 561-569.
40. Abdul Qadir M, Shahzadi K, Bashir A, Munir A, Shahzad, S. Evaluation of phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial activities of some common herbs. Int J Anal Chem, 2017; doi: <https://doi.org/10.1155/2017/3475738>.
41. Elostia A, Slevin M, Rahman K, Ahmes N. Aged garlic has more potent antiglycation and antioxidant properties compared to fresh garlic extract in vitro. Sci Rep, 2017; 7, 39613 doi:10.1038/srep39613.
42. Lafi B, Chaâbane M, Elwej A, Grati M, Jamoussi K, Mnif H, Boudawara T, Ketata Bouaziz H, Zeghal N. Effects of co-exposure to imidacloprid and gibberellic acid on redox status, kidney variables and histopathology in adult rats. Arch Physiol Biochem, 2017; 124, 175-184.
43. Chakroun S, Ezzi L, Grissa I, Emna Kerkeni E, Neffati F, Bhouiri R, sallem A, Najjar MF, Hassine M, Mehdi M, Haouas Z, Ben Cheikh H. Hematological, biochemical, and toxicopathic effects of subchronic acetamiprid toxicity in wistar rats. Environ Sci Pollut Res, 2016; 23, 25191-25199.
44. Dhoubi I, Annabi A, Lasram MM, El-Fazâa S. Anti inflammatory effects of N-acetylcystein against carbosulfan-induced hepatic impairment in male rats. Recent Adv Biol Med, 2015; 1, 29-40.
45. Kasmî S, Bkhairia I, Harrabi B, Mnif H, Marrakchi R, Ghazzi H, Kallel C, Nasri M, Zeghal K, Jamoussi K, Hakim A. Modulatory effects of quercetin on liver histopathological, biochemical, hematological, oxidative stress and DNA alterations in rats exposed to graded doses of score 250. Toxicol Mech Methods, 2018; 28, 12-22.
46. Hossen MS, Tanvir EM, Prince MB, Paul S, Saha M, Ali MY, Gan SH, Khalil MI, Karim N. Protective mechanism of turmeric (*Curcuma longa*) on carbofuran-induced hematological and hepatic toxicities in a rat model. Pharm Biol, 2017; 55, 1937-1945.
47. Salihu M, Ajayi BO, Adedara IA, Farombi E. 6-Gingerol-rich fraction from zingiberofficinale prevents hematotoxicity and oxidative damage in kidney and liver of rats exposed to carbendazim. J Dietary Supplements, 2015; 13, 433-448.
48. Meligi NM, Hassan HF. Protective effects of *Erucasativa* (rocket) on abamectin insecticide toxicity in male albino rats. Environ Sci Pollut Res, 2017; 24, 9702-9712.
49. Hassouna I, Ibrahim H, Abdel Gaffar F, El-Elaimy I, Abdel Latif H. Simultaneous administration of hesperidin or garlic oil modulates diazinon-induced hemato- and immunotoxicity in rats. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2015; 37, 442-449.
50. Abdel Daim M, Taha R, Ghazy EW, El-Sayed YS. Synergistic ameliorative effects of sesame oil and alpha-lipoic acid against subacute diazinon toxicity in rats: haematological, biochemical and antioxidant studies. Can J Physiol Pharmacol, 2015; 94, 81-88.
51. Zhang J, Song W, Sun Y, Shan A. Effects of phoxim-induced hepatotoxicity on SD rats and the protection of vitamin E. Environ Sci Pollut Res, 2017; 24, 24916-24927.
52. Badgujar PC, Pawar NN, Chandratre GA, Telang AG, Sharma AK. Fipronil induced oxidative stress in kidney and brain of mice: Protective effect of vitamin E and vitamin C. Pestic Biochem Physiol, 2014; 118, 10-18.
53. Apaydin FG, Bas H, Kalender S, Kalender Y. Bendiocarb induced histopathological and biochemical alterations in rat liver and Preventive role of vitamins C and E. Environ Toxicol Pharmacol, 2016; 49, 148-155.
54. Shalaby S, Farrag A, El-Saed G. Toxicological potential of thiamethoxam insecticide on albino rats and its residues in some organs. Ecotoxicol Environ Saf, 2010; 73, 101-107.
55. Yilmaz M, Rencuzogullari E, Canli M. Investigations on the effects of etoxazole in the liver and kidney of Wistar rats. Environ Sci Pollut Res, 2017; 24, 19635-19639.
56. Chaâbane M, Ghorbel I, Elwej A, Mnif H, Boudawara T, Ellouze Chaabouni S, Zeghal N, Soudani N. Penconazole alters redox status, cholinergic function, and membrane bound ATPases in the cerebrum and cerebellum of adult rats. Hum Exp Toxicol, 2016; 36, 854-866.
57. Savas M, Yeni E, Ciftci H, Yildiz F, Gulum M, Keser BS, Verit A, Utangac M, Kocuyigit A, Celik H, Bitiren M. The antioxidant role of oral administration of garlic oil on renal ischemia-reperfusion in-

- jury. Renal Failure, 2010; 32, 362-367.
- 58.Kashif Zaidi S, Ansari SA, Tabrez S, Hoda MN, Ashraf GM, Khan MS, Alnohair S, Banu N, Al-Qahtani MH. Garlic extract attenuates immobilization stress-induced alterations in plasma antioxidant/oxidant parameters and hepatic function in rats. Trop Biomed, 2016; 5, 364-369.
- 59.Djeffal A, Messarah M, Boumendjel A, Kadeche L, Feki AE. Protective effects of vitamin C and selenium supplementation on methomyl-induced tissue oxidative stress in adult rats. Toxicol Ind Health, 2015; 31, 31-43.
- 60.Laouar A, Klibet F, Bourogaa E, Benamara A, Boumendjel A, Chefrou A, Messarah M. Potential antioxidant properties and hepatoprotective effects of Juniperus phoenicea berries against CCl4 induced hepatic damage in rats. Asian. Pac J Trop Med, 2017; 10, 263-269.
- 61.Chaâbane M, Tir M, Hamdi S, Boudawara O, Jamoussi K, Boudawara T, Ghorbel RE, Zeghal N, Nejla Soudani N. Improvement of heart redox states contributes to the beneficial effects of selenium against penconazole-induced cardiotoxicity in adult rats. Biol Trace Elem Res, 2015; 169, 261-270.
- 62.Klibet F, Boumendjel A, Khiari M, El Feki A, Abdennour C, Messarah M. Oxidative stress-related liver dysfunction by sodium arsenite: alleviation by Pistacia lentiscus oil. Pharm Biol, 2015; 54, 354-363.
- 63.Mishra V, Srivastava N. Organophosphate pesticides-induced changes in the redox status of rat tissues and protective effects of antioxidant vitamins. Environ Toxicol, 2013; 30, 472-482.
- 64.Mukthamba P, Srinivasan K. Hypolipidemic and antioxidant effects of dietary fenugreek (Trigonellafenum-graecum) seeds and garlic (Allium sativum) in high-fat fed rats. Food Bioscience, 2016; 14, 1-9.
- 65.Taleb-Senousci D, Ghoumari H, Krouf D, Bouderbala S, Prost J, Lacaille-Dubois MA, Bouchenak M. Antioxidant effect of Ajuva aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. Phytomedicine, 2009; 16, 623-631.
- 66.Kurban S. The effect of alcohol on total antioxidant activity and nitric oxide levels in the sera and brains of rats. Turk J Med Sci, 2008; 38, 199-220.
- 67.Abelhady DH, El-Magd MA, Elbially ZI, Saleh AA. Bromocriptin-induced hepatotoxicity is accompanied by upregulation of PXR/CYP3A1 and downregulation of CAR/CYP2B1 gene expression. Toxicol Mech Methods, 2017; 27, 544-550.
- 68.Nasr AY. Protective effect of aged garlic extract against the oxidative stress induced by cisplatin on blood cells parameters and hepatic antioxidant enzymes in rats. Toxicol Rep, 2014; 1, 682-691.

COMMUNICATIONS



6^{èmes} Journées Scientifiques de l'ATT «Processus Toxiques-Bioactivité-Biosurveillance»
Tabarka, 21-23 Janvier 2017

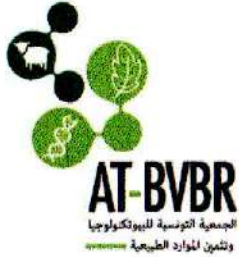
Attestation de Participation

Le comité d'organisation des 6^{èmes} Journées Scientifiques de l'ATT, tenues à Tabarka du 21 au 23 Janvier 2017, atteste que *M^{lle} Bernovague Salma* a participé aux journées et a présenté une communication par affiche n°.....*81*.....

Le Secrétaire Général de l'ATT
Pr. Leïla Chekir Ghedira

Association Tunisienne de Toxicologie (ATT), Faculté de Médecine Dentaire, Rue Avicenne, 5019 Monastir.

Site web: www.attox.org Tél: + 21673425550, Fax: + 216 73461150



V^{ème} Congrès International de
Biotechnologie et Valorisation des Bio-Ressources

ATTESTATION DE PARTICIPATION

Le comité d'organisation du V^{ème} congrès international de Biotechnologie et Valorisation des Bio-Ressources (AT-BVBR), tenu à Tabarka - Tunisie, du 22 au 25 mars 2017, atteste que :

BERROUAGUE SALMA

a participé activement aux journées-et a présenté la communication par affiche intitulée :

Effet protecteur de la vitamine C contre la néphrotoxicité induite par le tébuconazole chez le rat mâle de la souche wistar

BERROUAGUE S, ROUAG M, BOUMENDJEL A & MESSARAH M

Le Comité d'organisation

Association Tunisienne
de Biotechnologie et Valorisation
des Bio-Ressources

SNBES
2018

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ 20 AOÛT 1955 SKIKDA
FACULTÉ DES SCIENCES
DÉPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



Séminaire National Biologie Environnement et Santé
SNBES 2018
08-09 Octobre 2018

ATTESTATION DE PARTICIPATION

Je soussignée Dr. Slimani S., présidente du Séminaire National Biologie Environnement et Santé SNBES 2018, atteste que **Berrouague S.** a présenté : une communication affichée

Intitulée : «OXIDATIVE STRESS INDUCED BY TEBUCONAZOLE (TEB) IN RAT LIVE AND KIDNEY: ATTENUATION BY VITAMIN C».

Co-Auteurs: M. Rouag, N. Djaber, A. Boumendjel & M. Messarah

La présidente du Séminaire:

Dr. Souheila Slimani
UNIVERSITÉ 20 AOÛT 1955 SKIKDA
FACULTÉ DES SCIENCES
Département sciences de la vie et de la nature
Séminaire national de biologie, Environnement et santé
SNBES :2018