

EFFETS DU SELENIUM SUR LE STRESS OXYDANT AU NIVEAU DES REINS DE RATS TRAITES PAR LE TEBUCONAZOLE EFFECTS OF SELENIUM ON TEBUCONAZOLE-INDUCED NEPHROTOXICITY IN ADULT RATS

H. BEN SAAD¹, I. KAMMOUN², KH. M. ZEGHAL¹, I. BEN AMARA², C. MAGNÉ³, A. HAKIM^{1*}

1 : Laboratoire de Pharmacologie, Faculté de Médecine de Sfax, Université de Sfax, 3029 Sfax, Tunisie.

2 : Institut Supérieur de Biotechnologie de Sfax, Université de Sfax, 3000 Sfax, Tunisie.

3 : Université de Bretagne Occidentale, Brest, France.

*E-mail de l'auteur correspondant : ahmed.hakim@hotmail.fr

Résumé

Le présent travail consiste à étudier l'impact d'un contaminant environnemental le tébuconazole (TEB) à une dose de 100 mg/kg chez des rats adultes et l'allévation par le sélénium sur quelques paramètres biochimiques et histologiques au niveau des reins. Nos résultats ont montré des perturbations de l'ordre biochimique au niveau des reins associées à une forte peroxydation lipidique, une perturbation du système de défense antioxydant enzymatique (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase) et non enzymatique (glutathion), et des changements histopathologiques. La consommation de sélénium par les rats intoxiqués restaure tous les paramètres précédents à des niveaux quasi –normaux.

Mots clés : Rats ; Tébuconazole ; Sélénium ; Stress oxydatif ; Reins ; Néphrotoxicité.

Abstract

Tebuconazole (TEB), a major environmental pollutant, is known for its wide toxic manifestations. Hence, the objective of the present study was to explore the renoprotective effect of selenium by assessing renal functions, markers of oxidative stress and antioxidant status in TEB-treated rats. The elevated levels of renal lipid peroxidation (MDA) and advanced oxidation protein product (AOPP) in TEB-treated rats were reversed without reaching normal values. Furthermore, selenium treatment revealed a significant improvement in catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) with a significant decline in glutathione (GSH) levels in kidneys of TEB-treated rats. Histological studies confirmed that selenium effectively protected the kidneys against TEB-mediated oxidative damage. These findings demonstrated the renoprotective effects of selenium by attenuating markers of oxidative stress in renal tissues of TEB-treated rats.

Keywords : Tebuconazole; Selenium; Oxidative stress; Antioxidant.

ملخص

تبحث هذه الدراسة تأثير ملوث بيئي من نوع تيبوكونازول بجرعة 100 ملغم / كغم في الفئران البالغة و الزيادة بمستوى بعض المؤشرات الكيميائية الحيوية والنسجية في الكلى. وقد أظهرت نتائجنا اضطرابات بيوكيميائية في الكلى المرتبطة بتقوية بيروكسدة الدهون، واضطراب نظام الدفاع المضادة للأكسدة الأنزيمية (ديسموتاز المؤكسد الفائق، الكاتالاز، الجلوتاثيون بيروكسيداز) وغير الأنزيمية (الجلوتاثيون)، والتغيرات النسيجية المرضية. يعتبر استهلاك السيلينيوم من قبل الفئران المسممة مساعدا على رجوع جميع المؤشرات السابقة إلى مستويات شبه طبيعية.

الكلمات المفتاحية: الفئران ; تيبوكونازول ; السيلينيوم ; الإجهاد المؤكسد ; الكلى ; التسمم الكلوي.

1. INTRODUCTION

La pollution des écosystèmes peut avoir différentes origines, notamment l'agriculture intensive qui constitue une grande source de la dispersion des pesticides dans l'environnement. L'objectif était d'une part la lutte contre les maladies nuisibles aux plantes, à l'homme et aux animaux, d'autre part l'amélioration du rendement et de la qualité des cultures. Parmi les pesticides, nous pouvons citer les insecticides qui détruisent ou repoussent les insectes, les tiques et les mites; les herbicides qui détruisent les mauvaises herbes ou les plantes indésirables et les fongicides qui éliminent les champignons et les moisissures. Les fongicides sont surtout utilisés dans l'agriculture pour détruire ou combattre les ravageurs et les espèces indésirables de plantes ou d'animaux qui peuvent causer des dommages aux denrées alimentaires et aux produits agricoles [1]. Parmi les fongicides, nous pouvons citer le tébuconazole (TEB). Le TEB est un fongicide hydrophobe à faible solubilité dans l'eau [2]. L'exposition de l'homme au TEB peut se produire par l'intermédiaire de résidus dans l'alimentation, par inhalation ou contact cutané dans les zones rurales où ce fongicide est appliqué. Le TEB pourrait réduire la viabilité cellulaire, perturber la distribution normale du cycle cellulaire et engendrer aussi des perturbations endocriniennes. En outre, il pourrait causer un stress oxydatif dans de nombreux organismes, organes, tissus, d'où la stimulation de la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) [3]. Pour se protéger des effets délétères des ERO, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses anti-oxydantes. On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, acide lipidique...; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (catalase...), de protéines (transferrine, albumine...) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endo-nucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre, le fer, le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes anti-oxydantes.

Etant donné les effets néfastes du TEB, nous nous sommes intéressés dans le présent travail à tester la toxicité induite par ce fongicide chez des rats adultes au niveau des reins et la correction possible par le sélénium.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1 Produits chimiques

Tous les produits chimiques utilisés dans cette étude ont été achetés par l'intermédiaire des fournisseurs commerciaux standards.

2.2 Animaux et traitement expérimental

Toutes les procédures expérimentales ont été réalisées selon les lignes directrices internationales pour les soins et l'utilisation des animaux de laboratoire [4]. Des rats mâles adultes de souche Wistar sont soumis dans une animalerie maintenue à une température de $21 \pm 1^\circ\text{C}$. Les rats sont soumis à un régime normal d'aliment solide provenant de la Société Industrielle d'alimentation (SNA, Sfax). La boisson est de l'eau courante fournie à volonté. Après une semaine d'acclimatation, nous avons procédé au traitement des animaux. Des rats mâles adultes sont soumis à différents traitements pendant une durée de 30 jours.

2.3 Protocole expérimental

Les rats ont été répartis en fonction de leurs traitements en 3 lots de 8 rats chacun :

- Un lot de rats témoins (T).
- Un lot de rats traités quotidiennement par le TEB à une dose de 100 mg/kg par voie intrapéritonéale.
- Un lot de rats recevant une reprise journalière de TEB avec une alimentation enrichie avec le sélénium à raison de 0,5 mg/kg dans l'alimentation. La période de traitement est de 30 jours pour tous les groupes.

La dose du TEB (100 mg/kg du poids corporel), a été choisie selon la littérature, elle provoque une toxicité sans causer une mortalité chez les rats traités [5]. La dose de sélénium (0,5 mg/kg de l'alimentation) a été basée sur l'étude de Ben Amara et al. [6] pour être efficace pour abaisser la toxicité induite par le TEB.

2.4 Sacrifice et prélèvement des reins

A la fin de la période de traitement, des échantillons de reins, ont été prélevés, pesés et immédiatement broyés à 4°C dans le Tris HCl

(0,15M), à raison de 3 ml/300 mg puis centrifugés à 9000 tr/min pendant 20 min. Les surnageants sont conservés à -80°C pour servir à des dosages biochimiques. D'autres échantillons de reins ont été fixés dans une solution tamponnée de formol (10%) pour servir à des études histologiques.

2.4.1 Détermination de la concentration en protéines

Cette méthode repose sur l'utilisation conjointe d'un réactif de Biuret qui réagit avec les liaisons peptidiques et du réactif de Folin qui réagit avec les fonctions phénoliques. La densité optique à 750 nm est proportionnelle à la quantité de protéines présentes dans la réaction [7]. Le dosage est effectué en utilisant l'albumine bovine sérique en tant qu'étalon (BSA).

2.4.2 Dosage du malondialdéhyde (MDA)

Le MDA est le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique, notamment par la simplicité et la sensibilité de la méthode de dosage. La méthode de mesure repose sur une libération en milieu acide du MDA fixé selon la technique de Draper et Hadley [8]. Chaque surnageant issu de l'extrait d'homogénat d'organe (0,5 ml) est mélangé avec 1 ml d'acide trichloroacétique (TCA 30%) et centrifugé à 2500 rpm pendant 10 mn. 1ml d'une solution d'acide thiobarbiturique (TBA) à 0,67% et 0,5 ml de surnageant sont incubés pendant 15 mn à une température de 90°C. L'absorbance du complexe TBA-MDA est déterminé à 532 nm. La peroxydation lipidique est exprimée en nmol d'acide thiobarbiturique (g tissu/mg de protéines) en utilisant le 1, 1, 3,3-tétraéthoxypropane (TEP) comme standard.

2.4.3 Détermination des taux en produits d'oxydation avancée des protéines (AOPP)

L'AOPP ont été déterminés selon la méthode de Kayali *et al.* [9]. La concentration de chaque échantillon en AOPP a été calculée en utilisant le coefficient d'extinction ($261 \text{ cm}^{-1} \text{ mM}^{-1}$) et les résultats ont été exprimés en nmoles/mg de protéines.

2.4.4 Détermination de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD)

L'activité SOD par le test NBT « nitrobleue

tetrazolium » est une méthode de photo réduction : la réduction du NBT par l'anion superoxyde O_2^- est utilisé comme base de détection de la présence de SOD [10]. Le mélange riboflavine, méthionine et NBT donne une coloration bleue. La présence de SOD inhibe l'oxydation du NBT. Le mélange réactionnel contient 50 mM d'homogénat de tissu dans le tampon phosphate à pH 7,8, 0,1 mM EDTA, 13 mM L-méthionine, 2 μM de riboflavine et 75 μM de NBT. Le développement de la couleur bleue est mesuré à 560 nm. Cette activité est exprimée en unité par mg de protéines.

2.4.5 Détermination de l'activité catalase (CAT)

Les catalases sont des enzymes tétramériques, intervenant dans les défenses de la cellule contre le stress oxydant en éliminant les espèces oxygénées réactives et en accélérant la réaction spontanée de dismutation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) [11]. La réaction enzymatique est initiée par addition à 20 μl de l'homogénat de tissu dans une solution de tampon phosphate 100 mM à pH 7,4, le substrat H_2O_2 à une concentration de 0,5 M. Le changement d'absorbance à 240 nm est déterminé. L'activité spécifique de la catalase est calculée par nmol de H_2O_2 consommée/min/mg de protéines.

2.4.6 Détermination de l'activité glutathion peroxydase (GPx)

La GPx catalyse l'oxydation de glutathion (GSH) par le cumène hydroperoxyde. En présence de GSH réductase et de NADPH, la GSH oxydée est immédiatement convertie à sa forme réduite avec une oxydation concomitante de NADPH--NADP⁺. La réduction de cette absorbance a été mesurée à 340 nm [12].

2.4.7 Dosage du glutathion (GSH) au niveau tissulaire

Le principe du dosage est basé sur le fait que les groupements thiols du glutathion réagissent avec le DTNB (5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoic acide, réactif d'Ellman) pour développer une coloration jaune [13,14]. Le produit obtenu est réduit par la glutathion réductase pour recycler le GSH et produire davantage du TNB (5-thiol-2-nitrobenzic acide). Le taux de production du TNB est proportionnel à la concentration de GSH présent dans l'échantillon. La mesure de l'absorbance du TNB est effectuée à 412 nm.

2.5 Techniques histologiques

Après anesthésie des rats, des échantillons de reins ont été prélevés chez des rats témoins et traités au TEB associé ou non au sélénium. Ils sont immédiatement fixés, après leur prélèvement, dans une solution de formaldéhyde tamponnée à 10% pendant au moins 48 heures afin d'assurer une meilleure conservation et interprétation histologique.

2.6 Présentations des résultats et analyse statistique :

Les valeurs moyennes sont exprimées avec leur écart type, représentés sur les figures par un trait vertical (barre d'erreur). La comparaison des moyennes est estimée en utilisant le test-t-de student entre les groupes témoins et traités (excel, 2007). La différence est considérée significative pour $p < 0,05$.

3. RESULTATS

3.1. Etude des paramètres biochimiques au niveau rénal

3.1.1 Taux en MDA

Nous avons obtenu, suite au traitement des rats au TEB, une augmentation de 26 % des taux en MDA, indice de peroxydation lipidique (Figure 1). Cette augmentation pourrait être expliquée par la génération des espèces réactives de l'oxygène suite à l'injection du TEB. Une diminution des taux de MDA (Figure 1) chez le groupe co-traité par le sélénium et le TEB a été notée.

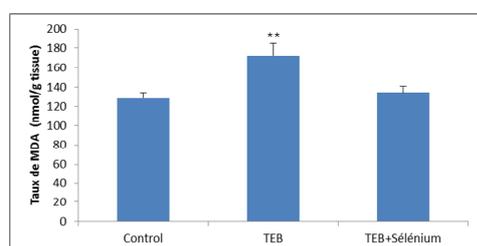


Figure 1 : Taux en MDA rénal chez des rats adultes, témoins et traités pendant 30 jours au TEB (100 mg/kg de poids corporels) associé ou non au sélénium (0,5 mg/kg).
 Traités vs témoins : ** : $p < 0.01$

3.1.2 Taux en AOPP

L'AOPP, biomarqueur de l'oxydation protéique, a fortement augmenté ($p < 0,001$) suite à une exposition des rats au TEB à une dose de 100 mg/kg du poids corporels (Figure 2) confirmant ainsi l'oxydation des protéines par les radicaux libres générés suite au traitement des rats adultes au TEB. La co-administration de sélénium corrige ce paramètre.

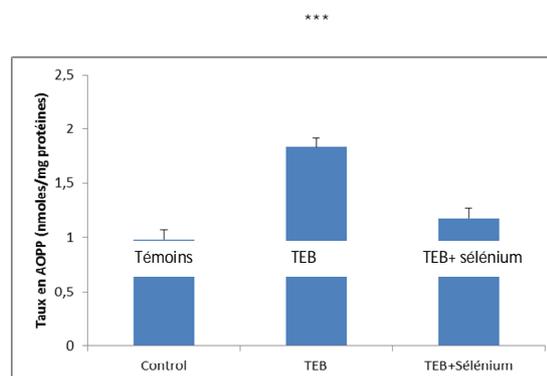


Figure 2 : Taux en AOPP rénal chez des rats adultes, témoins et traités pendant 30 jours au TEB (100 mg/kg de poids corporels) associé ou non au sélénium (0,5 mg/kg).
 Traités vs témoins : ***: $p < 0.001$

3.1.3 Activité de la SOD au niveau rénal

L'activité antioxydant de la SOD au niveau des reins a fortement augmenté ($< 0,001$) chez le groupe traité par le TEB, comparativement aux témoins (figure 3). Ces résultats suggèrent que la toxicité induite par le TEB pourrait augmenter le système de protection cellulaire, spécifiquement la première ligne de défense enzymatique, au niveau des reins afin de neutraliser les radicaux libres générés par ce fongicide. Alors que l'activité de la SOD a légèrement diminué chez le groupe co-traité par le sélénium.

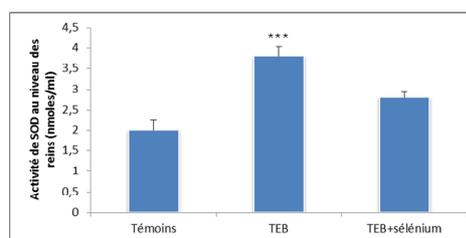


Figure 3 : Activité enzymatique de la SOD au niveau des reins de rats témoins et traités durant 30 jours au TEB associé au non au sélénium. Traités vs témoins : ***: $p < 0.001$

3.1.4 Activité de la catalase au niveau rénal

Le stress oxydatif peut résulter d'une diminution des activités de quelques antioxydants enzymatiques tels que la CAT. En effet, selon nos résultats, le TEB a engendré une diminution de taux de CAT au niveau des reins. Alors que l'activité de la CAT a légèrement diminué chez le groupe traité uniquement par le sélénium (Figure 4).

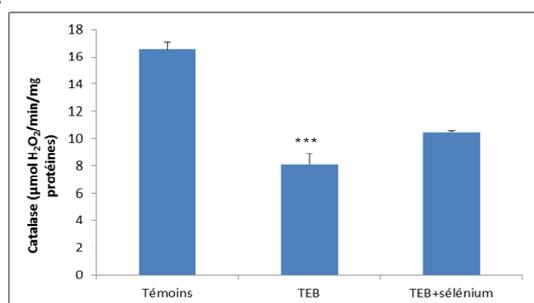


Figure 4: Activité enzymatique de la catalase au niveau des reins de rats témoins et traités durant 30 jours au TEB associé ou non au sélénium. Traités vs témoins : *** : $p < 0,001$.

3.1.5 Activité de la GPx

L'activité enzymatique de la GPx au niveau des reins a diminué chez le groupe traité par le TEB comparativement aux témoins (Figure 5). La co-administration de sélénium dans l'alimentation des rats traités au TEB corrige ce paramètre (Figure 5).

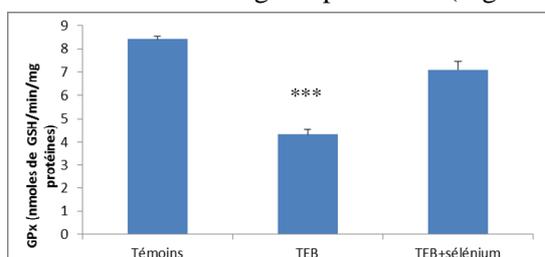


Figure 5: Activité enzymatique de la GPx au niveau des reins de rats témoins et traités durant 30 jours au TEB associé ou non au sélénium. Traités vs témoins : *** : $p < 0,001$

3.1.6 Taux en GSH

Le taux en GSH a augmenté pour le groupe traité par le TEB au niveau des reins comparativement aux témoins. La co-administration de sélénium dans l'alimentation des rats traités au TEB corrige ce paramètre (Figure 6).

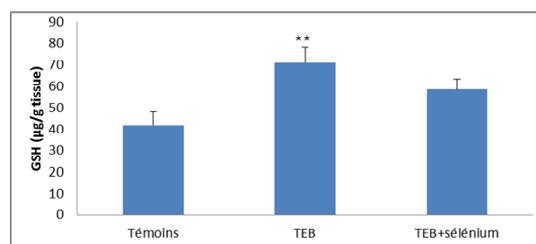


Figure 6: Taux en GSH au niveau des reins de rats témoins et traités durant 30 jours au TEB associé ou non au sélénium. Traités vs témoins : ** : $p < 0,01$.

3.2 Analyse histopathologique

D'après la figure 7 des changements histopathologiques ont été notés chez les rats traités au TEB. En effet, les modifications observées au niveau des coupes de reins des rats traités par ce fongicide sont caractérisées par une réduction de l'espace de filtration glomérulaire synonyme d'une ischémie glomérulaire, une congestion vasculaire et une infiltration lymphocytaire. En revanche, l'addition de sélénium dans l'alimentation des rats traités par le TEB a provoqué une réduction significative de la lésion des reins.

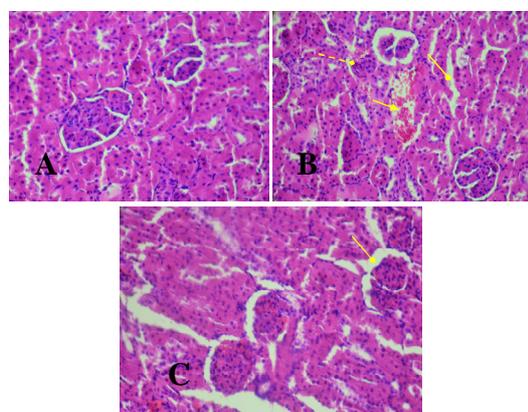


Figure 7: Structures histologiques des reins de rats témoins (A) et traités au TEB associé (C) ou non au sélénium (B) pendant une période de 30 jours. Coloration à l'hématoxyline-éosine. Les flèches indiquent : —●— espace de Bowman, — → infiltration leucocytaire, — → hémorragie.

4. DISCUSSION

Le rein est un organe dynamique qui intervient dans le maintien de l'homéostasie du corps. Le tissu rénal peut être affecté par divers médicaments et produits chimiques, y compris les xénobiotiques [15]. La présente étude a examiné l'effet protecteur

potentiel du sélénium contre la néphrotoxicité induite par le TEB.

L'appréciation de l'importance du stress oxydant dans de nombreuses pathologies rend nécessaire l'utilisation de différents dosages dont le plus utilisé est celui du MDA, un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés médiés par les radicaux libres. En effet, à la suite d'un stress oxydatif se forment les lipopéroxydes [16], parmi lesquels le MDA qui résulte de la fragmentation des acides gras polyinsaturés [17]. Nos résultats montrent, suite au traitement des rats au TEB, une augmentation des taux en MDA. Cette augmentation pourrait être expliquée par la génération des espèces réactives de l'oxygène suite à l'injection du TEB.

Un autre marqueur du stress oxydatif et de l'oxydation protéique est l'AOPP [18]. L'AOPP a fortement augmenté suite à une exposition des rats au TEB confirmant ainsi l'oxydation des protéines par les radicaux libres générés suite au traitement des rats adultes par le TEB. En effet, le déséquilibre entre les systèmes de défense et la production de radicaux libres entraîne des altérations biochimiques au niveau des cellules de l'organisme, telles que l'apparition de cassures au niveau de l'ADN, ou des atteintes de l'intégrité de la membrane cellulaire par l'induction de la peroxydation lipidique et des altérations au niveau des protéines [19]. Les réactions d'oxydation des protéines peuvent être classées en deux catégories: d'une part, celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne peptidique, d'autre part, les modifications des peptides par addition de produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-hydroxynonanal. De telles modifications conduisent généralement à une perte de la fonction catalytique ou structurale des protéines affectées [20] qui deviennent généralement plus sensibles à l'action des protéases ce qui provoque leur élimination. L'oxydation de la cystéine est réversible mais peut également perturber les fonctions biologiques de certaines protéines. En effet, les protéines jouent un rôle important, leur dysfonctionnement peut bouleverser le fonctionnement cellulaire (enzymes, protéines structurales) [21]. La co-administration du sélénium exerce un effet protecteur et réduit le stress oxydatif induit par le TEB comme en témoigne la diminution des valeurs de la peroxydation lipidique et de l'AOPP par rapport au groupe traité uniquement au TEB.

Les cellules possèdent, à l'état normal, un ensemble de substrats et de systèmes enzymatiques participant à la défense antioxydante en empêchant les radicaux libres pro-oxydants d'altérer les constituants cellulaires. Parmi les enzymes antioxydantes, nous pouvons citer la catalase et les métallo-enzymes telles que les superoxydes dismutases (Cu,Zn-SOD, Mn-SOD) et la glutathion peroxydase (Se-GSHPx). Les radicaux libres, agissant en tant que pro-oxydants sont impliqués dans la genèse du stress oxydant et le déséquilibre de la balance oxydant-antioxydant. Le stress oxydant induit une forte production des ERO qui sont très toxiques pour les cellules, particulièrement pour les membranes cellulaires. Ces ERO vont interagir avec la bicouche lipidique et provoquent la production de lipopéroxydes [22]. Toutefois, des antioxydants endogènes enzymatiques et non enzymatiques sont responsables de la détoxification de l'organisme en luttant contre les effets délétères des radicaux libres [23]. Quand la génération d'ERO dépasse la capacité antioxydante cellulaire, le stress oxydatif se développe conduisant ainsi à un dysfonctionnement cellulaire et des lésions tissulaires.

Dans la première série d'analyse, les indices de néphrotoxicité au niveau des tissus rénaux ont été considérés. Le GSH joue un rôle multifactoriel dans le mécanisme de défense antioxydant [24]. C'est un piègeur direct des radicaux libres, un co-substrat nécessaire pour l'activité de la GPx et celle de la glutathion-s-transférase [25] et participe dans la régénération de la vitamine E oxydée. Par conséquent, les changements des taux de GSH peuvent être considérés comme un indicateur particulièrement sensible du stress oxydant [26]. Les taux en GSH ont augmenté chez le groupe traité au TEB au niveau des reins comparativement aux témoins. Cette augmentation reflète la participation du GSH à la défense cellulaire contre les ERO. A l'inverse, les dommages oxydatifs ont été réduits suite à la supplémentation du sélénium. Une telle réduction pourrait être due à l'effet antioxydant de cet oligoélément.

Les antioxydants enzymatiques, agissent également comme des lignes de défense dans la cellule contre l'effet pro-oxydant des radicaux libres [27,28]. La SOD est l'une des plus importantes enzymes antioxydantes du système de défense de l'organisme. La fonction majeure de la SOD est de catalyser la dismutation de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et réduire par conséquent les effets toxiques dus à ce radical

libre [6]. La catalase est une enzyme catalysant la dismutation du peroxyde d'hydrogène (généralement produit par les SOD) en eau et en oxygène moléculaire [21,29]. Cette hémoprotéine protège les tissus des radicaux hydroxyles qui sont très réactifs [24]. L'activité de la SOD a augmenté, par contre celle de la catalase a diminué au niveau des reins pour le groupe traité au TEB, comparativement aux témoins. Il est bien connu que l'anion superoxyde inactive la catalase, enzyme qui participe à la détoxification du peroxyde d'hydrogène. Ainsi, l'augmentation de l'activité de la SOD pourrait indirectement jouer un rôle important dans l'activité de la catalase [24]. La diminution de l'activité de la CAT pourrait être résultat de l'inactivation de l'enzyme par l'anion superoxyde. Cela explique aussi l'incapacité de la SOD à protéger la CAT [30]. Les GPx constituent une famille d'enzymes capables de réduire des composés hydroperoxydes en composés hydroxyles correspondants en utilisant du glutathion ou des agents réducteurs équivalents comme co-substrats [31]. L'activité enzymatique de la GPx au niveau des reins a diminué pour le groupe traité au TEB comparativement aux témoins. Ces résultats sont en accord avec les travaux antérieurs de Ben Amara et al. [32] effectués sur des rats traités avec un pesticide, le diméthoate. Ces auteurs ont attribué cette diminution à l'effet du stress oxydatif. En effet, l'augmentation de la peroxydation lipidique affaiblit aussi bien le fonctionnement des membranes par la baisse de leur fluidité que l'activité des enzymes membranaires et cytoplasmiques [33].

Pour confirmer les données biochimiques, un examen histologique des reins a été réalisé. Le TEB a provoqué une infiltration des leucocytes inflammatoires et une vacuolisation. En revanche, l'addition du sélénium dans l'alimentation des rats traités par le TEB a provoqué une réduction significative de la lésion des reins. Ces observations se sont produites grâce à la capacité de réabsorption des tubules proximaux qui a été améliorée par l'effet protecteur du sélénium [6]. L'examen histologique a montré également une vaste vacuolisation chez les rats traités au TEB. Ces modifications histopathologiques étaient moins prononcées au niveau des reins du groupe co-traité au sélénium+TEB.

En résumé, les résultats précités ont montré que le stress oxydatif induit par le TEB induit un développement des lésions rénales et des modifications structurelles et fonctionnelles avec des changements dramatiques de divers processus

cellulaires et physiologiques. A l'inverse, le co-traitement avec le sélénium corrige les dommages tissulaires induits par le TEB.

5. REFERENCES

- [1] Ahmad I, Smriti S, Ashutosh K, Brajesh KS, Devendra KP, Haushila PP et al, Maneb and paraquat-induced modulation of toxicant responsive genes in the rat liver: Comparison with polymorphonuclear leukocytes, *Chem Biol Inter*; 2010, **188**, 566–579.
- [2] EFSA – European Food Safety Authority, Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance tebuconazole; 2008, **176**, 1–109.
- [3] Monserrat JM, Martinez PE, Geracitano LA, Amado LL, Martins CMG, Pinho GLL et al, Pollution biomarkers in estuarine animals: critical review and new perspectives, *Comp Biochem Physiol Part C*; 2007, **146**, 221–234.
- [4] Council of European Communities, Council Instructions about the Protection of Living Animals Used in scientific Investigations, *Off J Europ Com (JO 86/609/CEE)*; 1986, **358**, 1–18.
- [5] Moser VC, Barone S, Smialowicz RJ, Harris MW, Davis BJ, Overstreet D et al, The effects of perinatal tebuconazole exposure on adult neurological, immunological, and reproductive function in rats, *Toxicol Sci*; 2001, **62**, 339–352.
- [6] Ben Amara I, Troudi A, Garoui EI, Hakim A, Boudawara T, Zeghal KM et al, Protective effects of selenium on methimazole nephrotoxicity in adult rats and their offspring, *Exp Toxicol Pathol*; 2011, **10**, 04–007.
- [7] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randal RJ, Protein measurement with the Folin phenol reagent, *Biol Chem*; 1951, **193**, 265–275.
- [8] Draper HH, Hadley M, Malondialdehyde determination as index of lipoperoxidation, *Method Enzymol*; 1990, **186**, 421–431.
- [9] Kayali K, *Empire to Nation: Historical Perspectives on the Making of the Modern World*. Lanham, MD: Rowman and Littlefield, co-edited with Joseph W. Esherrick and Eric Van Young; 2006.
- [10] Beauchamp T, and Fridovich C, Superoxyde dimutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide sel, *Ann Rev Biochem*; 1971, **44**, 276–287.
- [11] Aebi H, Catalase in vitro, *Methods Enzymol*; 1984, **105**, 121–126.
- [12] Flohe L, Gunzler WA, Assays of glutathione peroxidase, *Methods Enzymol*; 1984, **105**, 114–121.
- [13] Ellman GL, Tissue sulfhydryl groups, *Arch Biochem Biophys*; 1959, **82**, 70–77.
- [14] Jollow DJ, Mitchell JR, Zampaglione N, Gillette JR, Bromobenzene induced liver necrosis: protective role of glutathione and evidence for 3,4-bromobenzeneoxide as the hepatotoxic intermediate, *Pharmacology*; 1974, **11**, 151–169.
- [15] Ajith TA, Nivitha V, Usha S, Zingiber of ficinale Roscoe alone and in combination with alpha-tocopherol protect the kidney against cisplatininduced acute renal failure, *Food Chem Toxicol*; 2007, **45**, 921–927.
- [16] Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE, Free radicals, antioxidants and human disease, Where are we now? *J Biol Clin Med*; 1992, **119**, 589–620.
- [17] Sahnoun Z, Jamoussi K, Zeghal KM, Radicaux libre et anti-oxydant : physiologie, pathologie humaine et aspects thérapeutique, *Thérapie* ; 1997, **52**, 251–270.

- [18] Witko-Sarsat VV, Gausson AT, AOPP-induced activation of human neutrophil and monocyte oxidative metabolism: a potential target for N-acetylcysteine treatment in dialysis patient, *Kidney Inter*; 2003, **64**, 82–91.
- [19] Moffarts B, Kirschvink N, Pincemail J, Lekeux P, Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval, *Ann Méd Vét* ; 2005, **149**, 1–9.
- [20] Levine RL, carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease, *Free Rad Biol Med*; 2002, **32**, 790–796.
- [21] Delattre J, Beaudeau JL, Bonnefont R, Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris ; 2005, 353–376.
- [22] Sivajothi V, Dey A, Jayakar B, Raj Kapoor B, Antihyperglycemic, Antihyperlipidemic and Antioxidant Effect of *Phyllanthus rheedii* on Streptozotocin Induced Diabetic Rats, *Iran J Pharm Res*; 2008, **7**, 53–59.
- [23] Cho S, Park JY, Park EM, Choi MS, Lee MK, Jeon SM et al, Alternation of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in streptozotocin induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract, *Clin Chim Acta*; 2002, **317**, 109–117.
- [24] Sathishsekar D, Subramanian S, Antioxidant properties of *Momordica Charantia* (bitter gourd) seeds on Streptozotocin induced diabetic rats, *Asia Pac J Clin Nut*; 2005, **14**, 153–158.
- [25] Ravi K, Ramachandran B, Subramanian S, Effect of *Eugenia Jambolana* seed kernel on antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetes in rats, *Life Sci*; 2004, **75**, 2717–2731.
- [26] Taleb-Senouci D, Ghomari H, Krouf D, Bouderbala S, Prost J, Lacaille-Dubois MA et al, Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats, *Phytomedicine*; 2009, **16**, 623–31.
- [27] Liu AR, Chen SC, Lin XM, Wu SY, Xu T, Cai FM et al, Endophytic *Pestalotiopsis* species spp. associated with plants of *Palmae*, *Rhizophoraceae*, *Planchonellae* and *Podocarpaceae* in Hainan, China, *Afr J Microbiol Res*; 2010, **4**, 623–631.
- [28] Uzun FG, Demir F, Kalender S, Bas H, Kalender Y, Protective effect of catechin and quercetin on chlorpyrifos-induced lung toxicity in male rats, *Food Chem Toxicol*; 2010, **48**, 1714–1720.
- [29] Mohora M, Greabu M, Muscurel C, DuŃă C, Totan A, The sources and the targets of oxidative stress in the etiology of diabetic complications, *Rom J Biophys*; 2007, **17**, 63–84.
- [30] Kakkar R, Mantha SV, Radhi J, Prasad K, Kalra J, Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes, *J Clin Sci*; 1998, **94**, 623–32.
- [31] Gladyshef VN, Jeang KT, Wootton JC, Hatfield DL, A new human selenium-containing protein, *J Biol Chem*; 1998, **273**, 8910–8915.
- [32] Ben Amara I, Soudani N, Hakim A, Troudi A, Zeghal KM, Boudawara T et al, Selenium and vitamin E, natural antioxidants, protect rat cerebral cortex against dimethoate-induced neurotoxicity, *Pest Biochem Physiol*; 2011, **101**, 165–174.
- [33] Pallavi V, Limaye NR, Sivakami S, Printed in the Netherlands. Oxidative stress and gene expression of antioxidant enzymes in the renal cortex of streptozotocin-induced diabetic rats, *Mol Cell Biochem*; 2003, **243**, 147–152.