

EFFETS CORRECTEURS DES POLYSACCHARIDES DE L'ALGUE ROUGE *ALSIDIDIUM CORALLINUM* CONTRE LA TOXICITE INDUITE PAR LE TEBUCONAZOLE

PROTECTIVE EFFECTS OF POLYSACCHARIDES FROM RED ALGA *ALSIDIDIUM CORALLINUM* AGAINST TEBUCONAZOLE-INDUCED TOXICITY

H. BEN SAAD^{1,2,3,*}; A. HAKIM^{1,3}; KH. M. ZEGHAL^{1,3} ET I. BEN AMARA²

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

2 : Laboratoire de Génie Enzymatique et de Microbiologie- Ecole Nationale des Ingénieurs de Sfax- Tunisie.

3 : Faculté de Médecine de Sfax – Université de Sfax -Tunisie.

*E-mail de l'auteur correspondant : hajer.ben.saad@hotmail.fr

Résumé

L'objectif de notre étude consiste à l'évaluation de l'effet protecteur des polysaccharides extraits de l'algue rouge *Alsidium corallinum* contre la toxicité induite par un fongicide, le tébuconazole (TEB) sur des rats adultes. Quelques paramètres morphologiques et hématologiques ont été étudiés chez les rats témoins et traités au TEB associé ou non aux polysaccharides pendant 30 jours. De même, les paramètres du stress oxydatif au niveau des érythrocytes ont été déterminés. Ce fongicide a induit une perte du poids corporel et une perturbation des paramètres hématologiques, ainsi qu'une toxicité au niveau érythrocytaire provoquant un état du stress oxydatif démontré par une peroxydation lipidique et une diminution des activités de défense enzymatique. Le traitement avec les polysaccharides issus de l'*Alsidium corallinum* a corrigé efficacement les perturbations causées par le TEB grâce à leurs pouvoirs antioxydants.

Mots - clés : Tébuconazole ; *Alsidium corallinum* ; Polysaccharides ; Stress oxydant.

Abstract

The present study aims to investigate the protective effects of polysaccharides isolated from the red alga *Alsidium corallinum* (PS) against tebuconazole (TEB)-toxicity in adult rats. The animals were divided into four groups: group I were used as controls, group II treated with TEB (100 mg/kg B.W), group III received TEB and 200 mg/kg of PS, and group IV received only PS. The TEB-treated group showed a loss of body weights of rats and a significant decrease in erythrocytes, platelets, hemoglobin, and hematocrits values. Additionally, superoxide dismutase, glutathion peroxydase and glutathione were decreased by TEB treatment. While, TEB induces, a significant increase in lipid peroxidation, total white blood cells, compared to those of controls. PS appeared to be effective against toxicity induced by potassium bromate, as evidenced by the improvement of the parameters cited above.

Key - words: Tebuconazole ; *Alsidium corallinum* ; Polysaccharides; Oxidative stress.

ملخص

الهدف من دراستنا هو تقييم التأثير الوقائي للسكريات المستخلصة من الطحالب الحمراء *Alsidium corallinum* ضد السمية التي يسببها مبيد الفطريات TEB tebuconazole لدى الجرذان البالغة. تمت دراسة بعض المتغيرات المورفولوجية والدموية في الجرذان الضابطة وعولجت بـ TEB ، سواء كانت مرتبطة بعديد السكريات أم لا لمدة 30 يوماً. وبالمثل ، تم تحديد معاملات الإجهاد التأكسدي في كريات الدم الحمراء. تسبب مبيد الفطريات هذا في فقدان وزن الجسم وتعطيل المعلمات الدموية ، فضلاً عن السمية على مستوى كرات الدم الحمراء مما تسبب في حالة من الإجهاد التأكسدي الذي يظهره أكسدة الدهون وانخفاض في أنشطة الدفاع الأنزيمية.

العلاج بواسطة السكريات المستخرجة من *Alsidium corallinum* يصحح بشكل فعال الاضطرابات التي تسببها TEB بفضل قوتها المضادة للأكسدة.

الكلمات المفاتيح : تيبوكونازول ; *Alsidium corallinum* ; السكريات ; الاكسدة.

INTRODUCTION

Les polysaccharides sont des produits bioactifs, identifiés comme étant des composés multifonctionnels, avec plusieurs activités biologiques [1]. Au cours de ces dernières années, ils ont été largement étudiés en raison de leurs importantes propriétés chimiques et leurs diverses activités biologiques [2,3]. Ils sont des antioxydants efficaces contre la peroxydation des lipides en piégeant les radicaux initiateurs, en brisant la réaction en chaîne, en décomposant les peroxydes et en se liant à des catalyseurs d'initiation de chaîne [4]. Grâce à leurs activités biologiques, les polysaccharides peuvent être utilisés contre les dégâts provoqués par les pesticides. Ces derniers, particulièrement les fongicides pourraient être toxiques et causent des effets néfastes sur la santé et l'environnement. Le tébuconazole (TEB) est un fongicide connu pour sa pénétration rapide dans la feuille, puis sa migration lente et régulière vers l'intérieur de la plante. L'exposition de l'Homme au TEB peut se produire par contact cutané dans les zones rurales où ce fongicide est largement utilisé. Il pourrait causer un stress oxydatif dans de nombreux tissus à travers la stimulation de la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) [5]. Pour cela, les polysaccharides sont utilisés pour leurs activités antioxydantes et antiradicalaires et pour alléger les effets délétères du TEB. Dans le présent travail, le processus de l'extraction des polysaccharides à partir de l'algue rouge «*Alsidium corallinum* » a été optimisé puis les extraits ont été testés pour évaluer leur pouvoir protecteur contre la toxicité induite par le TEB à travers l'étude de l'évolution pondérale des rats et des paramètres hématologiques et du stress oxydant.

MATERIEL ET METHODES

1.1 Matériel végétal

L'algue rouge *A. corallinum* a été récoltée le mois de Mars 2018 de la zone de Sidi Mansour, Sfax (Tunisie).

2.1.1 Traitement

L'algue a été soigneusement lavée à l'eau de robinet puis mise à sécher au laboratoire à l'abri des rayons solaires et de la poussière. Elle a ensuite été finement broyée et conservée dans des flacons en plastique, à l'abri de la lumière et de l'humidité.

2.1.2 Extraction des polysaccharides

L'extraction est un procédé physique qui permet la récupération ou la purification d'un composé en utilisant les différences de solubilités naturelles de certains liquides. L'extraction des polysaccharides de notre algue a été réalisée en utilisant la méthode d'extraction de Liu et al. (2015) avec quelques modifications.

30 grammes de poudre algal ont été mis avec 900 ml d'eau distillée à une température de 90°C pendant 3 heures. Le mélange a ensuite été centrifugé et filtré. 400 ml du filtrat récupéré a été traité par le chloroforme/éthanol (1V/1V/2V). Après une agitation rigoureuse, la phase organique a été récupérée puis dépigmentée avec l'acétone (V/V), puis évaporée et concentrée à l'aide du ROTAVAPOR. La dialyse a été effectuée avec l'eau distillée pour éliminer les protéines. L'extrait déprotéiné a subi enfin une lyophilisation pour récupérer les polysaccharides.

2.2 Traitement des rats :

Des rats, ayant un poids compris entre 150 et 200 g, provenant de la pharmacie centrale de Tunis ont été utilisés. Les animaux ont été répartis au hasard en quatre groupes de six rats chacun :

- Un lot de rats témoins
- Un lot de rats traités pendant 30 jours au TEB (100 mg/kg de poids corporel) par injection intrapéritonéale.
- Un lot de rats traités pendant 30 jours au TEB associé aux polysaccharides extraits de l'algue rouge *Alsidium corallinum* à une dose de 200 mg/kg d'aliment solide.
- Un lot de rats traités pendant 30 jours aux polysaccharides extraits de l'algue rouge *Alsidium corallinum* à une dose de 200 mg/kg d'aliment solide.

Tous les lots de rats ont été traités pendant trente jours et ont été pesés chaque jour.

2.3 Sacrifice et prélèvements du sang

Tous les rats ont été sacrifiés par décapitation afin d'éviter le stress. Le sang est prélevé au niveau du tronc juste après leur décapitation. Certains échantillons ont été centrifugés dans des tubes héparinés pendant 10 min à une vitesse de 3500 t/min soit 2200 g pour séparer le plasma des éléments figurés du sang. D'autres échantillons sanguins ont été prélevés dans des tubes à Éthylène Diamine Tétra-Acétique (EDTA) pour la

détermination de certains paramètres hématologiques.

Après détermination de la formule sanguine, les mêmes échantillons prélevés sur EDTA ont été centrifugés pendant 15 min à 2200 g. Le culot obtenu a été suspendu dans une solution hypotonique (0.9% NaCl+ Tris HCl; PH=7,4) puis centrifugé. Cette opération de lavage érythrocytaire a été répétée trois à quatre fois. Après avoir éliminé les débris cellulaires par centrifugation pendant 15 min à 3000 g, les hémolysats obtenus ont été conservés à -80°C pour le dosage de paramètres du stress oxydant au niveau des érythrocytes.

2.4. Détermination de l'hémogramme (numération formule sanguine : NFS)

Les paramètres hématologiques ont été déterminés à l'aide de 2 automates électriques (Coulter type S880 et Coulter Maxem) : le nombre de globules rouges, le nombre de globules blancs, le taux d'hématocrite (Ht), le taux des plaquettes, la concentration en hémoglobine (Hb) et le volume globulaire moyen (VGM).

2.5 Détermination des paramètres de stress oxydant au niveau des érythrocytes

2.5.1 Dosage des protéines au niveau des érythrocytes

La méthode utilise le réactif de Biuret, qui réagit avec les liaisons peptidiques, et le réactif de Folin, qui réagit avec les fonctions phénoliques, et par la suite avec la tyrosine dans les protéines. Sa densité optique est mesurée à 750 nm.

2.5.2 Evaluation de la peroxydation lipidique

La peroxydation des lipides membranaires est estimée par la mesure du produit de cette réaction, le malondialdéhyde (MDA). Celui-ci est détecté par une réaction colorimétrique à l'aide d'acide thiobarbiturique (TBA). La réaction au TBA est une méthode très sensible qui permet de détecter de faibles quantités de peroxydes lipidiques et plus particulièrement le MDA libre. Celui-ci réagit avec le TBA pour former un chromogène rouge en milieu acide, dont l'absorption est mesurée par spectrophotométrie à 532 nm [7].

2.5.3 Détermination de l'activité du superoxyde dismutase (SOD)

Ce dosage est effectué en utilisant la technique de Beauchamp et Fridovich [8]. L'activité SOD est mesurée par sa capacité à inhiber la réduction du NBT (nitrobleu de tetrazolium) selon une méthode

indirecte de photoréduction. Dans un milieu aérobie éclairé, le mélange riboflavine, méthionine et NBT donne une coloration bleuâtre (bleu de formazan) dont l'absorbance est mesurée à 560 nm.

2.5.4 Détermination de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx)

Le dosage est réalisé selon la technique décrite par Flohe et Gunzler [9]. La GPx catalyse l'oxydation de cumène, en présence de GSH, en hydroxypéroxyde de cumène. En présence de glutathion réductase (GR) et de NADPH, le glutathion oxydé (GSSG) est immédiatement converti sous une forme réduite avec oxydation concomitante du NADPH en NADP⁺. La diminution d'absorbance qui en résulte est mesurée à 340 nm.

2.5.5 Dosage du glutathion réduit (GSH)

La méthode utilisée est celle d'Ellman [10] modifiée par Jollow et coll. [11]. Le GSH réagit avec l'acide dithiodinitrobenzoïque (DTNB) pour former un produit de couleur jaune dont l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 412 nm.

2.6. Présentation des résultats et analyses 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 obtenues sur 2 modalités de traitement a été réalisée en utilisant le test t de Student (Excel, 2007). La différence a été considérée significative au seuil de 5% ($p < 0,05$).

RESULTATS

3.1 Rendement polysaccharidique

Le tableau I ci-dessous montre le rendement massique de la fraction des polysaccharides de *l'Alsidium corallinum*. Le rendement relatif a été calculé par rapport au poids de matière sèche ayant servi à l'extraction.

Tableau I : le rendement des polysaccharides après l'extraction

Extrait	Masse en g	Rendement en g
Poudre algale	30	1,263

3.2 Effets des polysaccharides contre la toxicité induite par le TEB

3.2.1 Paramètres morphologiques : Evolution du poids corporel

La figure 1 présente l'évolution de la masse corporelle des rats en fonction du temps. Nos résultats ont montré que chez les rats témoins,

le pourcentage d'augmentation a été de 4%. Chez ceux traités pendant 30 jours au TEB à une dose de 100 mg/kg de poids corporel, ils ont présenté une perte de leur poids (**tableau II**). Concernant les rats traités par le TEB associé aux polysaccharides, nous avons obtenu un gain de poids corporel (**Figure 1**).

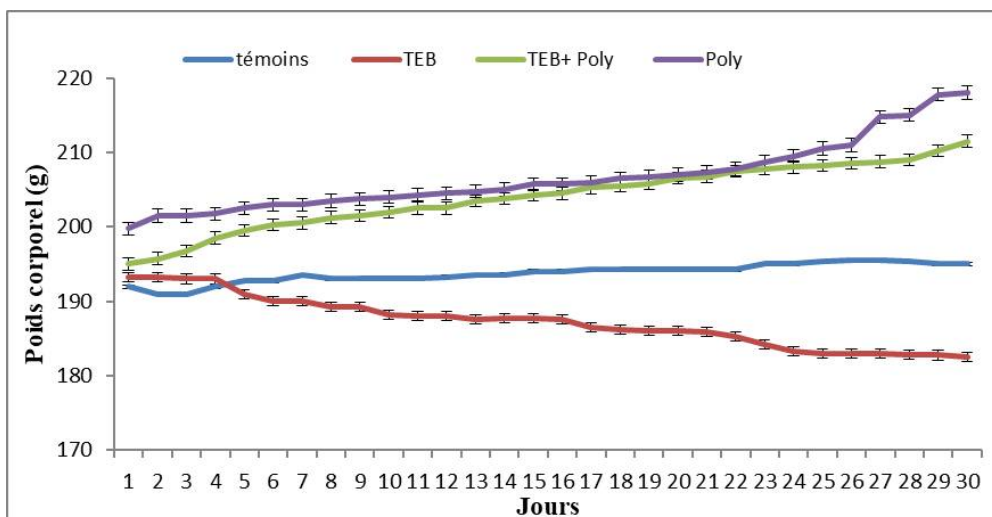


Figure 1 : Evolution du poids corporel des rats témoins, traités durant 30 jours au TEB à raison de 100 mg/kg du poids corporel associé ou non aux polysaccharides de l'algue rouge *Alsidium corallinum*

Tableau II : Consommations quotidiennes en aliment solide et en boisson par des rats témoins et traités durant 30 jours au tébuconazole (100 mg/kg) associé ou non aux polysaccharides extraits de l'algue rouge « *Alsidium corallinum* »

Paramètres et traitements	Témoins	TEB	TEB+ Polysaccharides	Polysaccharides
Aliment solide (g/j/rat)	11,65±0,99	8,08±1,13 *	14,28±3,43	14,72±1,66
Boisson (ml/j/rat)	8,70±2,17	6,19±0,80 *	6,98±1,98 *	7,84±2,70

Traités vs témoins * : p<0,05

3.2.2 Etude des paramètres hématologiques : Numération formule sanguine

Nos résultats ont montré une variation de quelques paramètres hématologiques chez les rats traités au TEB, en comparaison avec les rats témoins. En effet, une diminution du nombre de globules rouges ainsi que du taux en hémoglobine (Hb), et de l'hématocrite (Ht) a été obtenue chez ce groupe (**Tableau III**). Le co-traitement des rats avec les polysaccharides de *l'Alsidium coralinum* a provoqué un retour du taux de globules rouges à la normale.

De même, le nombre de globules blancs chez les rats traités au TEB a augmenté d'une façon significative par rapport à celui des rats normaux. Il passe de 8,34 10³/µl chez les rats témoins à 13,87 10³/µl. Par contre, une diminution significative du nombre de GB a été constatée chez les rats traités par ces macromolécules par rapport aux rats traités seulement par le TEB. Par contre, le nombre de plaquettes a montré une diminution par le traitement au TEB. Le co-traitement avec les polysaccharides a corrigé ce paramètre (**tableau III**).

Tableau III : Hémogramme des rats témoins et traités au TEB (100 mg/kg) associé ou non aux polysaccharides de l'algue rouge «*Alsidium corallinum*».

Paramètres et traitements	GR 10 ⁶ /μL	GB 10 ³ /μL	Hb g/100ml	Plaquettes 10 ³ /mm ³	Ht %	VGM mm ³ /GR	MCH pg/GR
Témoins	8,59±1,20	8,34±0,22	12,62±1,08	1436±10,32	47,68±1,70	59,08±1,07	14,12±1,43
TEB (100 mg/kg PC)	8,43±1,22*	13,87±1,56**	11,02±1,43*	890±12,98***	43,7±0,64*	61,62±0,76	14,65±1,17
TEB + poly	8,76±1,58	9,21±2,76	11,6±1,97	926±25,47***	43,8±2,45	59,95±0,19	14,65±1,44
Poly (200 mg/kg de l'alimentation)	8,11±1,84	9,76±2,98	12,23±1,20	1098±16,43**	45,8±2,12	59,75±1,43	14,61±1,82

Traités vs témoins : * :p<0,05 ; ** : p<0,01 ; *** : p<0,001

3.3.3 Etude du stress oxydatif au niveau des érythrocytes

- Peroxydation lipidique

Nos résultats ont montré une augmentation des taux de MDA, indice de peroxydation lipidique,

au niveau des érythrocytes (**Figure 3**). L'administration des polysaccharides de l'*A. corallinum* a réduit le stress oxydatif induit par le TEB au niveau des érythrocytes, comme l'a révélé la diminution remarquable des taux en MDA.

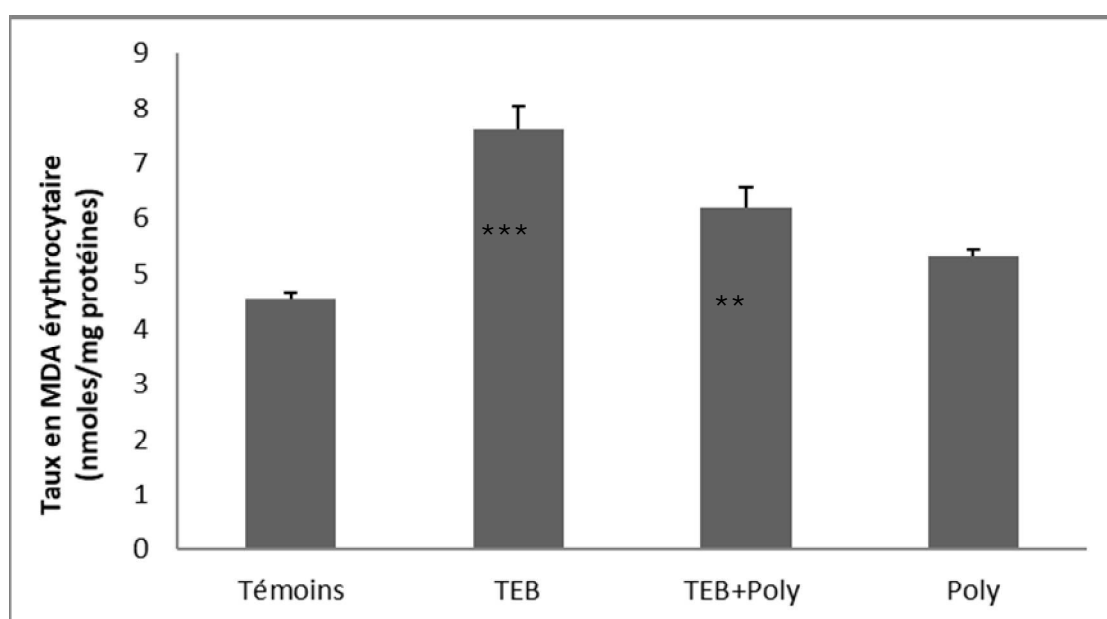


Figure 3 : Taux de MDA érythrocytaire chez des rats adultes, témoins et traités pendant 30 jours par le tébuconazole (100 mg/kg) seul ou associé aux polysaccharides. Traités vs témoins : **:p<0,01 ;***:p<0,001

- Activités de la SOD et de la GPx au niveau érythrocytaire

Nos résultats ont montré, suite au traitement avec le TEB, une diminution significative de l'activité de

la SOD et de la GPx (**tableau IV**). La co-administration des polysaccharides extraits de l'*Alsidium corallinum* a rétabli efficacement ces activités enzymatiques.

- *Taux de glutathion érythrocytaire*

Le taux de GSH, antioxydant non enzymatique, a été également perturbé par le traitement au TEB (**Tableau IV**). Nos résultats ont montré une diminution des taux de GSH

(régulateur redox primaire) à la suite de l'intoxication au TEB. A l'inverse, les dommages oxydatifs ont été réduits suite à la supplémentation des polysaccharides de *l'Alsidium corallinum*.

Tableau IV : Effets de tébuconazole (100 mg/kg) associé ou non aux polysaccharides sur les activités de la SOD et de la GPx et le taux de GSH.

Paramètres et traitements	SOD (U/mg pro)	GPx (µmoles GSH oxydase/min/mg pro)	GSH (µg/ mg pro)
Témoins	14,52±0,36	32,17±0,27	82,43±15,68
TEB (100 mg/kg PC)	9,63±0,47**	21,67±0,27***	47,79±17,31***
TEB + poly	10,28±0,60	24,65±0,35*	66,23±11,18**
Poly (200 mg/kg de l'alimentation)	13,67±0,31	29,32±0,26	72,45±13,46

Traités vs témoins : * : p<0,05 ; ** : p<0,01 ; *** : p<0,001

DISCUSSION

Dans la présente étude, des rats exposés au TEB pendant 30 jours ont montré une diminution de leur poids corporel. Selon Kammoun et al. [12], la perte du poids corporel des rats est due à l'effet toxique du TEB. La co-administration des polysaccharides issus de l'algue rouge *A. corallinum* aux rats traités par le TEB a amélioré leur poids. Ce gain du poids pourrait être expliqué par l'effet nutritionnel des polysaccharides en tant que des glucides.

Nos données ont également montré des anomalies au niveau de certains paramètres sanguins chez les rats traités par le TEB. Ainsi, nous avons observé une diminution significative du nombre d'érythrocytes, des taux en Hb et du pourcentage de l'hématocrite (Ht) chez le groupe traité par le TEB. Ce qui indique, selon des études antérieures, l'induction d'une anémie monochrome monocyttaire [13]. Cette anémie est définie par la diminution de la concentration en hémoglobine des globules rouges. La réticulation et l'agrégation des produits de radicaux libres induits par la peroxydation résultent de l'auto-oxydation de l'Hb. Cette dernière réagit avec le peroxyde d'hydrogène pour produire un oxydant. Donc, l'Hb dans les érythrocytes est une source importante de production de radicaux libres. En effet, quand les radicaux libres interagissent avec les pesticides au niveau des globules rouges, particulièrement l'Hb, elles accentuent la formation de radicaux superoxydes et le peroxyde d'hydrogène, ce qui

conduit à une hémolyse [14]. En outre, il y avait une réduction du nombre de plaquettes. Ceci peut être expliqué soit par l'endommagement de la moelle osseuse qui n'a pas permis de produire normalement les plaquettes [15], soit par la perturbation des paramètres hématologiques due au stress oxydatif probablement généré par le TEB. Les érythrocytes sont très sensibles aux dommages oxydatifs [16]. Dans le groupe traité par le TEB, l'augmentation du taux en malonaldéhyde (MDA), indique une hémolyse intravasculaire. Ainsi, la diminution de la fluidité de la membrane peut être due au processus d'oxydation ce qui provoque une hémolyse de la membrane [17]. Ces résultats ont montré que ce fongicide induit un stress oxydatif marqué par la génération de radicaux libres capables d'oxyder et d'endommager la membrane lipidique. D'autre part, l'augmentation de la peroxydation lipidique induite par le TEB a été attribuée, selon Leiphon et Picklo [18], à l'inhibition directe de ce fongicide de l'activité des aldéhydes déshydrogénases de types ALDH2 et ALDH5A. Ces deux enzymes mitochondriales sont impliquées dans la détoxification des produits de peroxydation lipidique.

Pour mettre en évidence les mécanismes sous-jacents de la toxicité induite par le TEB, le statut antioxydant dans les érythrocytes a été évalué. Il y avait une diminution des activités de la SOD et de la GPx. La SOD est considérée comme la première

ligne de défense contre les effets délétères des radicaux dans la cellule en catalysant la dismutation des radicaux superoxydes en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire. Nos résultats ont montré de faibles taux en GSH dans le groupe traité au TEB. Le GSH peut agir comme un anti-oxydant non enzymatique par l'interaction directe du groupement thiol avec les ERO ou il peut être impliqué dans la réaction de détoxification enzymatique, en tant que cofacteur [19].

Dans notre étude expérimentale, l'administration des PS a un effet protecteur puissant contre l'hématotoxicité et le stress oxydatif induit par le TEB au niveau des érythrocytes. Ceci est reflété par une amélioration des paramètres hématologiques (nombre des érythrocytes, taux en Ht, Hb, fragilité osmotique). Les globules blancs ont également été réduits par l'administration des PS. Ainsi, nos résultats pourraient suggérer un effet anti-inflammatoire des PS. Nos résultats ont montré également, une diminution significative des taux de MDA et l'élévation de l'activité des enzymes antioxydantes et des taux en glutathion. La supplémentation des PS semble donc avoir un effet antioxydant et antiperoxydatif, d'où le rôle potentiel de ces macromolécules dans la défense contre les radicaux libres [20].

CONCLUSION

Nos résultats ont montré des perturbations provoquées par le TEB. Le traitement par les polysaccharides a entraîné des corrections des effets délétères induits par ce fongicide. Les polysaccharides issus de l'*Alsidium corallinum* représentent une source précieuse de protection qui ouvrira la voie pour des applications futures.

RÉFÉRENCES

- [1] Angone SA, Nguema-Ona E, Driouich A. La thérapie par les plantes en Afrique: activités immunostimulantes des polysaccharides de la paroi végétale. *Phytothérapie*. 2010 ; 8: 223–230.
- [2] Jhamandas JH, Wie MB, Harris K, MacTavish D, Kar S. Fucoidan inhibits cellular and neurotoxic effects of beta-amyloid (A beta) in rat cholinergic basal forebrain neurons. *Eur J Neurosci*. 2005; 21 : 2649–2659.
- [3] Brudieux V. Extraction, modification enzymatique et caractérisation chimique de nouvelles structures pectiques. Application de la relation structure/activité à la dermocosmétique. Thèse doctorat. Université de Limoges; 2007. 220p.
- [4] Kang SM, Kim KN, Lee SH, Ahn G, Cha SH, Kim AD. Anti-inflammatory activity of polysaccharide purified from AMG-assistant extract of *Ecklonia cava* in LPS stimulated RAW 264.7 macrophages. *Carbohydr Polym*. 2011; 85: 80–85.
- [5] Monserrat JM, Martínez 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.
- [6] Liu J, Wen XY, Zhang XQ, Pu HM, Kan J, Jin CH. Extraction, characterization and in vitro antioxidant activity of polysaccharides from black soybean. *Inter J Biol Macromol*. 2015; 72: 1182–1190.
- [7] Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 1990; 186: 421–431
- [8] Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal Biochem*. 1971; 44: 276–287.
- [9] Flohe L, Gunzler WA. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol*. 1984; 105: 114–121.
- [10] Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*. 1959; 82: 70–77
- [11] Jollow DJ, Mitchell JR, Zampaglione N, Gillete JR. Bromobenzene induced liver necrosis: protective role of glutathione and evidence for 3,4 bromobenzeneoxide as the hepatotoxic intermediate. *Pharmacology*. 1974; 11: 151–169.
- [12] Kammoun I, Bkhairia I, Ben Abdallah F, Jaballi I, Ktari N, Boudawara O, et al. Potential protective effects of polysaccharide extracted from *Ulva lactuca* against male reprotoxicity induced by thiocloprid. *Arch Physiol Biochem*. 2017; 123: 334–343.
- [13] Bernabucci U, Ronchi B, Lacetera N, Nardone A. Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. *J Dairy Sci*. 2002 ; 85 : 2173–2217.
- [14] Celi J, Jean-Luc R, Arnaud P, Kaveh S. Anémie ferriprive, inflammatoire ou mixte : comment orienter le diagnostic. *RMS*. 2011; 7: 2018–2023.
- [15] Clemens MR, Waller HD. Lipid peroxidation in erythrocytes. *Chem Phys Lipids*. 1987; 45: 251–268.
- [16] French JK, Winterbourn CC, Carrell RW. Mechanism of oxyhaemoglobin breakdown on reaction with acetylphenylhydrazine. *Biochem J*. 1978; 173: 19–26.
- [17] Ghanayem BI. An overview of the hematotoxicity of ethylene glycol ethers. *Occupational Hygiene*. 1996; 2: 253–268.
- [18] Leiphon LJ, Picklo SM. Inhibition of aldehyde detoxification in CNS mitochondria by fungicides. *Neuro Toxicol*. 2007; 28: 143–149.
- [19] Shila S, Subathra M, Devi M A, Panneerselvam C. Arsenic intoxication-induced reduction of glutathione level and of the activity of related enzymes in rat brain regions: reversal by dl-?-lipoic acid. *Arch Toxicol*. 2004; 79: 140–146.
- [20] Kim, KJ, Lee OH, Lee BY. Fucoidan, a sulfated polysaccharide, inhibits adipogenesis through the mitogen-activated protein kinase pathway in 3T3-L1 preadipocytes. *Life Sci*. 2010; 86: 791–797.