

ETUDE DU PROFIL BIOCHIMIQUE CHEZ DES RATS TRAITES AVEC DES DOSES CROISSANTES EN THIAMETHOXAME

STUDY OF THE BIOCHEMICAL PROFILE IN RATS TREATED WITH INCREASING DOSES OF THIAMETHOXAM

A. FEKI^{1,4,*}; I. KAMMOUN^{1,4}; M. NAIFAR^{2,4}; F. MAKNI AYADI^{2,4};
A. HAKIM^{3,4} ET I. BEN AMARA^{1,4}

1 : Laboratoire de Génie Enzymatique et de Microbiologie, Ecole Nationale des Ingénieurs de Sfax, Université de Sfax- Tunisie

2 : Laboratoire de Biochimie, Faculté de Médecine de Sfax, Université de Sfax, 3029 Sfax- Tunisie.

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

4 : Faculté de Médecine de Sfax , Université de Sfax-Tunisie.

*E-mail de l'auteur correspondant : amal.feki05@gmail.com

Résumé

Au cours des dernières décennies, l'utilisation irrationnelle des pesticides est devenue un problème de santé touchant tous les mammifères. Dans ce contexte, le présent travail vise à étudier l'effet d'un insecticide systémique, le thiaméthoxame (TMX), sur les paramètres biochimiques. De ce fait, des rats mâles de souche Wistaront été traités par voie intrapéritonéale pendant 30 jours avec trois doses croissantes de TMX (100, 150 et 300 mg/kg de poids corporel). Les résultats montrent que l'exposition des rats au TMX a provoqué une perturbation des profils biochimiques. Cette perturbation se traduit par l'installation d'une hépatotoxicité, d'une insuffisance rénale, d'une athérosclérose, d'un infarctus de myocarde avec une augmentation de la pression artérielle. Cette toxicité est proportionnelle à la dose du TMX ce qui confirme la gravité de l'utilisation excessive de ce produit chimique pour la santé.

Mot - clés: Thiaméthoxame ; Toxicité ; Paramètres biochimiques.

Abstract

In the last few decades, excessive use of pesticides has become a serious health problem affecting all mammalian systems. In this context, the present work aims to elucidate the effect of a systemic insecticide, the thiamethoxam (TMX), on biochemical parameters. For this purpose, male Wistar rats were treated intraperitoneally for 30 days with three increasing doses of TMX (100, 150 and 300 mg/kg body weight). Data revealed that TMX induced a significant perturbation in all biochemical profiles. This disturbance was associated with pronounced deleterious effects on the hepatic, renal and cardiac functions, as evidenced by the installation of hepatotoxicity, kidney failure, atherosclerosis, myocardial infarction with increased blood pressure. Remarkably, this toxicity is proportional to the dose of TMX, which confirms the severity of immoderate use of this chemical for health.

Key - words: Thiamethoxam; Toxicity; Biochemical parameters.

ملخص

في العقود الأخيرة ، أصبح الاستخدام غير الرشيد لمبيدات الآفات مشكلة صحية تؤثر على جميع الثدييات. في هذا السياق ، يهدف عملنا الحالي إلى دراسة تأثير مبيد حشري جهازية، ثياميثوكسام (TMX)، على المؤشرات البيوكيميائية. لذلك وقع علاج ذكور الجرذان من سلالة ويستار داخل الصفاق لمدة 30 يوم بثلاث جرعات متزايدة من 100 و 150 و 300 ملجم / كجم من وزن الجسم، وأظهرت النتائج أن تعرض الجرذان لـ TMX تسبب في اضطراب الملامح البيوكيميائية. ينتج عن هذا الاضطراب تركيب السمية الكبدية، والفشل الكلوي، وتصلب الشرايين، واحتقان عضلة القلب مع ارتفاع ضغط الدم. هذه السمية تتناسب مع جرعة TMX مما يؤكد خطورة الاستخدام المفرط لهذه المادة الكيميائية حتى على صحة الانسان.

الكلمات المفتاحية: ثياميثوكسام ; تسمم ; المعلمات البيوكيميائية.

1. INTRODUCTION

La pratique de l'agriculture intensive demande une utilisation importante de produits phytosanitaires appelés communément pesticides. Ces substances permettent de lutter principalement contre les organismes considérés comme nuisibles : les insectes (insecticides), les champignons, les moisissures (fongicides), les mauvaises herbes (herbicides), les rongeurs (rongicides), etc...[1]. Cependant, ces produits phytosanitaires peuvent entraîner des effets non intentionnels qui se manifestent, par une toxicité chez les organismes non cibles comme les insectes utiles, la contamination des masses d'eau [2], des effets toxiques avérés pour l'homme [3] et pour son environnement [4], ainsi que l'acquisition de résistance des ravageurs [5]. Dans ce contexte les industries chimiques ont développé diverses familles de pesticides dont les insecticides [3].

Le thiaméthoxame (TMX) est un insecticide organique synthétique appartenant à la famille chimique des néonicotinoïdes et à la classe des thianicotynils. Son nom systématique est 3-(2-chloro-thiazol-5-ylméthyl)-5-méthyl-[1,3,5]-oxadiazinan-4-ylidène-N-nitroamine [6]. Il s'agit d'une nouvelle molécule, développée au cours des trois dernières décennies, dont l'intérêt est dû d'une part, à sa lutte contre les insectes qui sont résistants aux autres classes d'insecticides et d'autre part, à sa toxicité modérée pour les mammifères, les oiseaux et les poissons [7]. Le TMX est légèrement toxique par voie orale et par inhalation et il possède une faible toxicité par la voie cutanée. Il est peu ou pas irritant pour la peau et les yeux et il ne cause pas de sensibilisation cutanée [4]. Cet insecticide est classé cancérigène probable chez l'humain en raison de la réponse tumorigène chez cette espèce [6].

Dans ce contexte, l'objectif du présent travail consiste à étudier l'impact du TMX sur les paramètres biochimiques au niveau du plasma des rats adultes traités par trois doses croissantes pendant un mois.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Traitement des rats

Les 32 rats ont été répartis sur 4 groupes de 8 rats chacun :

-Groupe 1: Des rats témoins injectés par voie intrapéritonéale par NaCl, comme véhicule;

-Groupe 2: Des rats traités par le TMX à une dose de 100 mg/kg de poids corporels par voie intrapéritonéale pendant 30 jours ;

-Groupe 3: Des rats traités par le TMX à une dose 150 mg/kg de poids corporels par voie intrapéritonéale pendant 30 jours.

-Groupe 4: Des rats traités au TMX à une dose 300 mg/kg de poids corporels par voie intrapéritonéale pendant 30 jours.

Après 30 jours de traitement, les animaux ont été sacrifiés par décapitation dans une salle annexée à l'animalerie.

2.2. Prélèvement de sang

Le sang est prélevé dans des tubes héparinés puis centrifugés pendant 15 minutes à 3500 rpm afin de séparer le plasma des éléments figurés. Les échantillons plasmatiques sont conservés à -20 °C pour la détermination ultérieure des taux plasmatiques de quelques paramètres biochimiques.

2.3. Détermination des paramètres biochimiques au niveau du plasma

La détermination des paramètres biochimiques au niveau du plasma est réalisée grâce à un automate (DXC) 600.

2.3.1. Dosage de l'activité alanine aminotransférase (ALAT)

La réaction est initiée par addition de l'échantillon plasmatique au réactif [8] (Kit Biomaghreb, Tunis, Réf 20046).

2.3.2. Dosage de l'activité aspartate aminotransférase (ASAT)

C'est un dosage quantitatif de l'activité aspartate aminotransférase développé par Karmen *et al.* (1955)[8](Kit Biomaghreb, Tunis, Réf 20042).

2.3.3. Dosage de la bilirubine totale et directe (BT et BD)

Il s'agit d'une réaction entre la bilirubine et l'acide sulfanique diazoté qui conduit à un composé, l'azobilirubine, coloré en milieu très acide ou basique. En solution aqueuse, seule la bilirubine directe (BD) réagit. Pour doser la bilirubine totale (BT), il est nécessaire de rompre la liaison entre la bilirubine indirecte et l'albumine [9] (Kit Biolabo, France, Réf 97443).

2.3.4. Dosage de phosphatase alcaline (PAL)

La PAL catalyse l'hydrolyse de p-nitrophenyl phosphate à pH 10,4, en libérant p-nitrophenol et le phosphate (Kit Biomaghreb, Tunis, Réf 20015)[10].

2.3.5. Dosage de gamma-glutamyl transférase (GGT)

L'activité GGT est décrite selon la méthode de Balistreriet *al.* (1994)[11]. (Kit Biolabo, France, Réf 80210). La vitesse de formation du p-nitroaniline, directement proportionnelle à l'activité GGT dans le plasma, est mesurée à 405 nm.

2.3.6. Dosage du cholestérol total (CT)

Le dosage du cholestérol est réalisé selon une méthode enzymatique décrite par Allain *et al.* (1974)[12] (Kit Biomaghreb, Tunis, Réf 20111). L'intensité de la coloration rose est proportionnelle à la concentration initiale en cholestérol.

2.3.7. Dosage des lipoprotéines plasmatique (HDL et LDL)

Les chylomicrons et les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et de faible densité (LDL) contenus dans l'échantillon sont précipités par addition d'acide phosphotungstique en présence d'ions magnésium. Le surnageant obtenu après centrifugation contient les lipoprotéines de haute densité (HDL) dont le cholestérol est dosé par le réactif cholestérol enzymatique (Kit Biomaghreb, Tunis, 20113).

Les concentrations en LDL-cholestérol sont calculées par la formule de Friedewald *et al.* (1972)[13].

$LDL\text{-cholestérol (g/l)} = \text{cholestérol total} - (\text{HDL-cholestérol} + \text{triglycérides}/5)$

2.3.8. Dosage des triglycérides (TG)

Le dosage des triglycérides est un dosage enzymatique et colorimétrique réalisé par la méthode de Fossati et Prencipe (1982)[14] (Kit Biomaghreb, Tunis, Réf 20131). L'intensité de la coloration rose est proportionnelle à la concentration en triglycérides. Cette coloration est évaluée au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 505 nm.

2.3.9. Dosage de sodium

Il existe des méthodes colorimétriques et enzymatiques qui permettent de mesurer la concentration de sodium à l'aide d'instruments de chimie clinique standard[15]. Dans la réaction enzymatique, la β -galactosidase est activée par le sodium de l'échantillon. L'enzyme activée catalyse la réaction o-nitrophényl- β -D-galactopyranoside (NPG) en nitrophénol et galactose.

2.3.10. Dosage du potassium

Le dosage de la concentration du potassium dans le sang est assuré soit par des méthodes

spectrophotométrique sur les instruments d'étalonnage biologique, soit par une méthode enzymatique fondée sur l'activation du pyruvate kinase avec le potassium et donne une excellente linéarité ainsi qu'une sensibilité négligeable aux substances endogènes[16].

2.3.11. Dosages du chlore

La méthode est basée sur l'activation chloro-dépendante de l'activité de l'alpha -amylase. Une alpha-amylase désactivée est réactivée en ajoutant l'ion chlorure. La réaction est mesurée bi chromatiquement, et l'accroissement de l'absorbance est directement proportionnelle à l'activité de l'alpha amylase réactivée et à la concentration de chlore dans l'échantillon [17].

2.3.12. Dosage du calcium

Le calcium est dosé par une méthode colorimétrique (Kit Spinréact, Réf SP1001065). La mesure du calcium dans l'échantillon est basée sur la formation d'un complexe coloré entre le calcium et le o-Cresolphtaleine dans un milieu alcalin. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du calcium dans l'échantillon.

2.3.13. Dosage du magnésium

Le magnésium présent dans l'échantillon réagit avec la calmagite en milieu alcalin intermédiaire formant un complexe coloré qui peut être mesuré par spectrophotométrie.

2.3.14. Dosage du phosphore

Le phosphore est dosé par une méthode colorimétrique (Kit QUIMICA CLINICA APLICADA S. A, Espagne, Réf 996925). L'ion phosphate réagit avec le molybdate pour produire du phosphore-molybdate qui est finalement réduit en bleu molybdenum mesuré par photométrie dans la gamme UV. La lecture se fait à 340 nm.

2.3.15. Dosage du fer sérique

Le fer sérique a été mesuré par colorimétrie à la FerroZine. A un pH acide (citrate pH < 2,0), le fer est détaché de la transferrine. Les échantillons lipémiques sont clarifiés par le détergent. L'ascorbate réduit les ions Fe^{3+} en ions Fe^{2+} qui forment ensuite un complexe coloré avec la FerroZine. L'intensité de la coloration développée est directement proportionnelle à la concentration en fer et est mesurée par photométrie à 570 nm contre une courbe d'étalonnage saisie et mémorisée lors de la calibration de l'appareil.

2.3.16. Dosage de l'activité créatine phosphokinase (CPK)

La CPK est une enzyme dimérique composée de deux sous-unités. La sous unité M et la sous unité B. Ces sous-unités sont associées pour former 3 isoenzymes distinctes: CPK-BB, CPK-MB et CPK-MM. Le réactif CPK-NAC modifié contient un anticorps polyclonal (spécifique du monomère CPK-M) qui inhibe donc la totalité de l'activité CPK-MM et la moitié de l'activité CPK-MB. Seule l'activité de la sous-unité B non-inhibée, représentant la moitié de l'activité CPK-MB, est mesurée. Cette méthode prend en compte que l'activité CPK-BB dans le plasma est négligeable. (Kit Biolabo, France, Réf 97217).

2.3.17. Dosage du lactate déshydrogénase (LDH)

La LDH est une enzyme cytoplasmique présente dans tous les tissus et catalyse la réduction réversible du pyruvate en lactate selon la réaction de Henry (1979)[18] (Kit Biomaghreb, Tunis, Réf 20011). Le taux de la diminution de la concentration en NADH, directement proportionnel à l'activité de la LDH dans l'échantillon, est mesuré à 340 nm.

2.3.18. Dosage de la créatinine

La créatine kinase est une enzyme dimérique composée de deux sous-unités. La sous unité M et la sous unité B. Ces sous-unités sont associées pour former 3 isoenzymes distinctes: CPK-BB, CPK-MB et CPK-MM. Le réactif CPK-NAC modifié contient un anticorps polyclonal (spécifique du monomère CPK-M) qui inhibe donc la totalité de l'activité CPK-MM et la moitié de l'activité CPK-MB. Seule l'activité de la sous-unité B non-inhibée, représentant la moitié de l'activité CPK-MB, est mesurée. Cette méthode prend en compte que l'activité CPK-BB dans le sérum est négligeable. Le schéma réactionnel est le suivant (Kit Biolabo, France, Réf 97217). La formation de NADPH est mesurée en fonction de la différence en absorbance à 340 nm par rapport à 405nm. Cette différence d'absorbance est directement proportionnelle à l'activité de la créatine kinase dans l'échantillon.

2.3.19. Dosage de l'urée

L'urée est dosée par la méthode enzymatique décrite par Talke et Schubert (1970)[19](Kit Biomaghreb, Tunis, Réf 20141). Les ions ammonium, en présence de salicylate et d'hypochlorite de sodium réagissent en formant un composé de couleur verte (Dicarboxylindophenol)

dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en urée.

2.3.20. Dosage de l'acide urique

L'acide urique est dosé par la méthode enzymatique et colorimétrique décrite par Fossati et ses collaborateurs [20] (Kit Biomaghreb, Tunis, Réf 20091). La coloration rose est évaluée au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 510 nm. L'absorbance mesurée est proportionnelle à la quantité d'acide urique dans l'échantillon sérique.

2.3.21. Dosage de l'albumine

Le taux en albumine plasmatique a été déterminé par un dosage colorimétrique avec le vert de bromo-crésol à l'aide d'un Kit provenant de Biomaghreb, Tunisie (réf. 20094).

2.3.22. Dosage de glucose

Le glucose a été dosé par la méthode enzymatique par le glucose oxydase (Kit Biomaghreb, Tunis, Réf 20121). En présence de la glucose-oxydase, le glucose est oxydé en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier, en présence de la peroxydase et du phénol, oxyde un chromogène (4-aminoantipyrine) incolore en un colorant rouge à structure quinoneimine. L'absorption est mesurée à 505 nm et l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en glucose.

2.4. Analyse statistique

Les valeurs moyennes sont exprimées avec leur écart type, représentées sur les figures par un trait vertical (barre d'erreur). La comparaison des moyennes est estimée en utilisant le Test de Student entre les groupes témoins et traités (Excel, 2010). La différence est considérée significative pour $p < 0,05$.

3. RÉSULTATS

3.1. Bilan hépatique

Les résultats du dosage des biomarqueurs hépatiques montrent une augmentation des taux de l'ALAT, l'ASAT, la PAL, de la GGT et du BD chez les rats traités par le TMX par rapport aux rats témoins suivie d'une diminution significative ($p < 0,05$) du taux de la BT, de l'albumine et du glucose notée pour les doses 150 mg/kg et 300 mg/kg de TMX en comparaison avec les rats témoins (**Tableau I**).

3.2. Bilan lipidique

Les résultats obtenus dans le tableau 2 montrent une perturbation du profil lipidique caractérisée par une augmentation significative des taux plasmatiques en cholestérol total (CT), en triglycérides (TG), et en LDL chez les groupes traités par différentes concentrations en TMX par rapport aux rats témoins. Cependant, le taux de HDL subit une diminution significative ($p < 0,05$) dose dépendante (**Tableau II**).

3.3. Bilan myocardique

Les résultats déterminés dans le tableau 3 ont révélé que le taux de la LDH, ainsi que de la CPK ont augmenté suite à l'exposition des rats au TMX à différentes doses en comparaison avec les rats témoins (**Tableau III**).

3.4. Bilan rénal

Selon les résultats décrits dans le tableau 4, on remarque une augmentation ($p < 0,05$) des taux plasmatiques en urée, en acide urique et en créatinine chez les rats exposés au TMX en comparaison avec les rats du groupe témoin (**Tableau IV**).

3.5. Ionogramme sanguin

L'analyse des anions sodium (Na^+), potassium (K^+), chlore (Cl^-) et calcium (Ca^{2+}) subissent une augmentation significative chez les rats traités par le TMX. De plus, une élévation du taux plasmatique en fer (Fe) suivie d'une diminution du taux du phosphore ont été notés (**Tableau V**).

Tableau I : Les biomarqueurs hépatiques des différents groupes de rats

	Groupes de rats			
	Témoins	TMX (100 mg/kg)	TMX (150 mg/kg)	TMX (300 mg/kg)
ASAT (UI/l)	95,5±3,54	114±1,82**	134,25±3,38***	163±1,41***
ALAT (UI/l)	46 ±1,41	51±2,16*	56±4,08*	60,5±0,70**
BT (µmol/l)	6,95±0,49	5,41±0,3*	5,16±0,73**	4,4±0,99***
BD (µmol/l)	4,05±0,21	4,32±0,32	4,43±0,13*	5,05±0,21**
PAL (UI/l)	215,5±2,12	233,25±10,47**	246,5±21,06***	262±1,41***
GGT (UI/l)	1±0,001	1,33±0,58	1,5±0,58	1,75±0,6
Albumine (g/dL)	15,5±0,71	14,95±0,72*	13,75±1,5*	12,63±0,53**
Glucose (mmol/l)	9,16±0,32	8,63±0,25	7,84±0,51*	6,67±0,39**

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

ASAT : Aspartate aminotransférase ; **ALAT** : Alanine Aminotransférase ; **BT** : Bilirubine totale ; **BD** : Bilirubine directe ; **PAL** : Phosphatase alcaline ; **GGT** : Gamma -glutamyl transférase ; **UI** : Unité Internationale ; **TMX** : Thiaméthoxame.

Tableau II: Les biomarqueurs lipidiques des différents groupes de rats

	Groupes de rats			
	Témoins	TMX (100 mg/kg)	TMX (150 mg/kg)	TMX (300 mg/kg)
CT (mmol/l)	1,24±0,04	1,93±0,02*	1,99±0,08**	2±0,01***
TG (mmol/l)	1,11±0,16	1,6±0,016*	1,86±0,11*	1,9±0,042**
HDL (mmol/l)	0,41±0,017	0,38±0,039*	0,28±0,017**	0,2±0,042***
LDL (mmol/l)	0,33±0,042	0,82±0,026	0,87±0,063	0,92±0,069

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

CT : Cholestérol total ; **TG** : Triglycérides ; **HDL** : Lipoprotéine à haute densité; **LDL** : Lipoprotéine à basse densité; **TMX** : Thiaméthoxame.

Tableau III : Les biomarqueurs myocardiques des différents groupes de rats

	Groupes de rats			
	Témoin	TMX (100 mg/kg)	TMX (150 mg/kg)	TMX (300 mg/kg)
LDH (UI/l)	617,5±7,78	724,5±44,40*	770,75±43,02**	853,5±60,10***
CPK (UI/l)	2056,5±36,06	2443,5±84,04**	2646,75±48,26**	2744±45,25***

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

LDH : Lactate déshydrogénase ; CPK : Créatine phosphokinase ; TMX : Thiaméthoxame.

Tableau IV : Les biomarqueurs rénaux des différents groupes de rats

	Groupes de rats			
	Témoin	TMX (100 mg/kg)	TMX (150 mg/kg)	TMX (300 mg/kg)
Créatinine (mol/l)	28,5±0,71	29,5±1,29	30,75±1,71**	33,5±0,71***
Urée (mmol/l)	5,8±0,14	6,075±0,26*	6,21±0,39**	6,74±0,33***
Acide urique (mol/l)	80,5±2,12	84,88±1,18*	86,75±1,71**	87,5±2,12**

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

TMX : Thiaméthoxame.

Tableau V : Ionogramme sanguin des différents groupes de rats

	Groupes de rats			
	Témoin	TMX (100 mg/kg)	TMX (150 mg/kg)	TMX (300 mg/kg)
Sodium (mmol/l)	143±1,41	144,25±2,06	150±2,16*	172,5±2,12**
Potassium (mmol/l)	5,45±0,07	6,025±0,25*	6,43±0,22*	7,4±0,14**
Chlore (mmol/l)	93±1,41	94,5±2,08	95,5±1*	98±1,41**
Calcium (mmol/l)	2,02±0,16	2,13±0,08	2,26±0,02*	2,31±0,01*
Phosphore (mmol/l)	2,28±0,07	2,14±0,03	1,44±0,24	1,1±0,01**
Fer sérique (mmol/l)	5,3±1,56	19,6±1,57**	25,8±1,96***	26,7±0,28***

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

4. DISCUSSION

L'utilisation des produits chimiques dans la lutte contre les ravageurs des cultures est une nécessité. Cependant, leur utilisation a été sujette à polémique suite aux effets néfastes qu'ils engendrent au niveau des organismes non-cibles [21]. Les pesticides ont des effets nocifs sur l'homme mais aussi sur les animaux et les plantes. Ainsi, 15 à 20% de ces produits sont cancérigènes et la plupart d'entre eux sont des perturbateurs endocriniens [22]. Parmi ces pesticides, nous pouvons citer le thiaméthoxame (TMX), insecticide de la famille des néonicotinoïdes, utilisé dans notre étude. Cet insecticide présente une toxicité potentielle pour les mammifères [7].

La présente étude a été conçue pour évaluer, chez des rats de souche Wistar, l'effet du TMX injecté à des doses croissantes pendant 30 jours sur quelques paramètres biochimiques.

Il est bien établi que le foie est un organe cible des xénobiotiques et qui joue un rôle dans le processus de détoxification. Son endommagement et son dysfonctionnement induisent une hépatotoxicité et causent des complications qui peuvent affecter la santé. La modification des paramètres biochimiques due aux xénobiotiques représente un important indice et peut constituer un outil de diagnostic dans les études toxicologiques. Dans notre étude, les activités de l'ASAT et de la PAL sont utilisées dans l'évaluation de troubles hépatiques[23].

Ces enzymes sont présentes essentiellement dans les cellules du foie, mais aussi en proportion plus faible dans celles des reins, du cœur et des muscles. Physiologiquement, les activités de ces enzymes dans le sang sont faibles. Lorsque le foie est endommagé pour diverses raisons incluant les nécroses cellulaires hépatiques, l'hépatite, les cirrhoses et l'hépatotoxicité [24], ces enzymes sont libérées dans le sang circulant le plus souvent avant l'apparition de signes cliniques comme l'ictère qui se traduit par une coloration jaune des yeux et de la peau [5]. Ainsi, une augmentation significative des activités plasmatiques en ALAT, en PAL et en GGT a été observée chez les rats traités par le TMX. De plus, la bilirubine, un pigment biliaire jaune rougeâtre issu de la dégradation de l'hémoglobine, captée au niveau du foie et excrétée dans la bile, a été dosée [25]. L'accumulation de la bilirubine dans le sang favorise l'installation de l'ictère. Lors de la lésion hépatique, des quantités anormalement élevées de la bilirubine passent dans le sang et teintent les urines [26]. Elle existe sous 2 formes principales : la bilirubine libre, et après transformation par le foie, la bilirubine conjuguée ou directe. La bilirubine directe est excrétée dans la bile et dégradée dans l'intestin grêle et le colon puis évacuée dans les selles. Ce sont ces produits de la dégradation qui leur donnent leur couleur marron. L'ensemble : bilirubine libre + bilirubine directe (D-Bili) constitue la bilirubine totale (T-Bili). Ainsi, le dosage de la bilirubine totale et directe des rats expérimentaux a été réalisé. Les résultats montrent une augmentation du taux de la BD suivie d'une diminution significative du taux de la BT suggérant l'établissement d'une hépatotoxicité importante [6]. De même, le traitement des rats par le TMX a induit une diminution significative des taux de l'albumine et du glucose. Cette hypoalbuminémie ou/et cette hypoglycémie peuvent être survenues suite à une défaillance hépatique [27].

Il est bien connu que le foie est l'organe clé dans la synthèse et l'excrétion du cholestérol. A cet effet tout type d'obstruction dans le foie, soit intra ou extra-hépatique, va provoquer une augmentation du taux du cholestérol total dans le plasma. L'analyse des résultats met en évidence une augmentation significative des biomarqueurs lipidiques avec une diminution du taux de HDL- cholestérol. D'après ces résultats, on peut conclure que le traitement par le TMX provoque des perturbations des paramètres lipidiques au niveau du plasma objectivées par une hypercholestérolémie. Ces modifications lipidiques sont dues à l'installation d'une athérosclérose

caractérisée par l'accumulation anormale des lipides et de cholestérol LDL sur la paroi des artères, ce qui entraîne par conséquent l'obstruction des vaisseaux et donc l'augmentation du risque cardiovasculaire [28].

L'infarctus du myocarde est une maladie multifactorielle causée par de nombreux facteurs de risque cardiovasculaires, y compris l'exposition aux xénobiotiques [1]. La LDH et la CPK sont des enzymes utilisées comme marqueurs sensibles pour évaluer le degré de nécrose myocardique. En effet, la CPK est une enzyme que l'on trouve essentiellement dans les muscles, et qui intervient dans la mise en réserve de l'énergie par un mécanisme appelé phosphorylation de la créatine. Par contre, la LDH se trouve essentiellement dans le plasma. Elle constitue un indicateur d'une perturbation du bilan énergétique de la cellule conduisant à l'accumulation de la LDH suivie de la mort cellulaire [29]. L'augmentation du taux des activités enzymatiques de la LDH, de la CPK ainsi que de l'ASAT suite à l'exposition au TMX à différentes doses se traduit par une cytotoxicité ou encore par une cardiomyopathie [30].

Outre, le rein joue un rôle important dans l'homéostasie de l'organisme assurant la filtration des déchets toxiques issus de la circulation sanguine et leur excrétion dans l'urine [31]. Les constituants azotés rénaux y compris l'urée, l'acide urique et la créatinine ont été également évalués [32]. Habituellement, ces composés sont filtrés par les reins avec peu ou pas de réabsorption tubulaire [32]. Leur taux élevé dans le sang indique généralement une insuffisance rénale [33]. La créatinine est formée dans l'organisme par déshydratation non enzymatique de la créatine synthétisée par le foie et stockée dans le muscle [33]. Un taux plasmatique élevé en créatinine (associé à un taux élevé en urée) traduit une diminution de la filtration glomérulaire. L'urée provient de la destruction des protéines [34]. Il est entièrement filtré par les glomérules. Son taux sanguin reflète le fonctionnement global des reins. L'acide urique est le produit final du catabolisme des purines (adénosine et guanidine) endogènes et exogènes. Le taux d'acide urique dans le plasma peut augmenter lors de désordres métaboliques, de troubles nutritionnels, ou d'atteintes rénales. Dans notre étude expérimentale, une augmentation des concentrations plasmatiques en urée, en créatinine et en acide urique a été notée chez les rats traités au TMX. Cette augmentation est généralement liée à une altération ou dysfonctionnement des reins, à une insuffisance rénale ou même à une

néphrotoxicité liée à un excès d'acide urique dans le sang [35].

En plus des biomarqueurs rénaux, les éléments minéraux jouent un rôle important dans la construction des tissus humains et dans le règlement des réactions vitales en tant que cofacteurs de nombreux métalloenzymes [36]. Dans la présente étude, un dosage quantitatif de la composition ionique du sang tel que le sodium (Na^+), le potassium (K^+), le chlore (Cl^-), le calcium (Ca^{2+}), le fer (Fe) et le phosphore, a été réalisé. Toutefois, l'augmentation des taux du Na^+ , du K^+ et du Cl^- est généralement liée à une insuffisance rénale ou à une diminution de la filtration glomérulaire. De ce fait, le sodium retenu dans le sang va provoquer une surcharge de Na^+ ce qui va entraîner une rétention d'eau, qui a pour conséquence l'augmentation du volume sanguin, donc l'augmentation de la pression artérielle [37]. De plus, un excès de chlore dans le sang du à l'exposition des rats au TMX peut entraîner des troubles digestifs et respiratoires avec même des atteintes des muqueuses ce qui conduit par conséquent à des sécrétions épaisses, des exsudats fibrineux et même à une déshydratation [37].

De plus, l'ionogramme sanguin montre une augmentation des taux du Ca^{2+} , du Fe et du phosphore. Généralement, une augmentation du taux de calcium est liée à un problème parathyroïdien et/ou osseux. En effet, lorsque l'os est résorbé ou détruit, le calcium sera libéré dans le sang, ce qui peut produire une hypercalcémie [38]. D'autre part, l'exposition des rats à des doses croissantes en TMX entraîne une augmentation remarquable du fer sérique, ce qui peut être expliquée soit par une hémolyse des globules rouges ou par une cirrhose hépatique [38].

5. CONCLUSION

A la lumière des résultats obtenus on peut conclure que le TMX injecté à des rats adultes de souche Wistar à des doses croissantes peut entraîner une perturbation des différents profils biochimiques. L'effet néfaste de cet insecticide peut se traduire par l'installation d'une hépatotoxicité, d'une insuffisance rénale, d'une athérosclérose, d'un infarctus de myocarde avec une augmentation de la pression artérielle. Cette toxicité est proportionnelle à la dose du TMX ce qui confirme la gravité de l'utilisation excessive des produits chimiques pour les mammifères et pour la santé.

RÉFÉRENCES

- [1] Feki A, Ben Saad H, Bkhairia I, Ktari N, Naifar M, Boudawara O, et al. Cardiotoxicity and myocardial infarction-associated DNA damage induced by thiamethoxam in vitro and in vivo: Protective role of *Trigonella foenum-graecum* seed-derived polysaccharide. *Environmental Toxicology*. mars 2019;34(3):271-282.
- [2] Kennedy K, Devlin M, Bentley C, Lee-Chue K, Paxman C, Carter S, et al. The influence of a season of extreme wet weather events on exposure of the World Heritage Area Great Barrier Reef to pesticides. *Marine Pollution Bulletin*. juill 2012;64(7):1495-1507.
- [3] Meeker JD, Barr DB, Hauser R. Thyroid hormones in relation to urinary metabolites of non-persistent insecticides in men of reproductive age. *Reproductive Toxicology*. oct 2006;22(3):437-442.
- [4] Henry M, Beguin M, Requier F, Rollin O, Odoux J-F, Aupinel P, et al. A Common Pesticide Decreases Foraging Success and Survival in Honey Bees. *Science*. 20 avr 2012;336(6079):348-350.
- [5] Al-Habori M, Al-Aghbari A, Al-Mamary M, Baker M. Toxicological evaluation of *Catha edulis* leaves: a long term feeding experiment in animals. *Journal of Ethnopharmacology*. déc 2002;83(3):209-217.
- [6] Green T, Toghiani A, Lee R, Waechter F, Weber E, Peffer R, et al. Thiamethoxam Induced Mouse Liver Tumors and Their Relevance to Humans. *Toxicological Sciences*. 1 juill 2005;86(1):48-55.
- [7] Bingham G, Gunning RV, Delogu G, Borzatta V, Field LM, Moores GD. Temporal synergism can enhance carbamate and neonicotinoid insecticidal activity against resistant crop pests. *Pest Manag Sci*. janv 2008;64(1):81-85.
- [8] Karmen A, Wróblewski F, LaDue JS. TRANSAMINASE ACTIVITY IN HUMAN BLOOD. *J Clin Invest*. 1 janv 1955;34(1):126-133.
- [9] Walters MI, Gerarde HW. An ultramicromethod for the determination of conjugated and total bilirubin in serum or plasma. *Microchemical Journal*. juin 1970;15(2):231-243.
- [10] Wenger GC. Elderly Carers: the Need for Appropriate Intervention. *Ageing and Society*. juin 1990;10(2):197-219.
- [11] Balistreri WF. Nontransplant options for the treatment of metabolic liver disease: Saving livers while saving lives. *Hepatology*. mars 1994;19(3):782-787.
- [12] Allain CC, Poon LS, Chan CSG, Richmond W, Fu PC. Enzymatic Determination of Total Serum Cholesterol. *Clinical Chemistry*. 1 avr 1974;20(4):470-475.
- [13] Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*. 1 juin 1972;18(6):499-502.
- [14] Fossati P, Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clinical Chemistry*. 1 oct 1982;28(10):2077-2080.
- [15] Helgeson RC, Czech BP, Chapoteau E, Gebauer CR, Kumar A, Cram DJ. Host-guest complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. *J Am Chem Soc*. août 1989;111(16):6339-6350.
- [16] Berry MN, Mazzachi RD, Pejakovic M, Peake MJ. Enzymatic determination of potassium in serum. *Clinical Chemistry*. 1 mai 1989;35(5):817-820.

- [17] Ono T, Inoue Y. Discrete extraction of the Ca atom functional for O₂ evolution in higher plant photosystem II by a simple low pH treatment. *FEBS Letters*. 25 janv 1988;227(2):147-152.
- [18] Dick HJB, Sinton JM. Compositional Layering in Alpine Peridotites: Evidence for Pressure Solution Creep in the Mantle. *The Journal of Geology*. juill 1979;87(4):403-416.
- [19] Talke H, Keller J, Schmahl F. Effect of Nicotinamide on the Regulation of Carbohydrate Metabolism in Rat Liver. *Horm Metab Res*. 1970;2(03):147-152.
- [20] Fossati P, Prencipe L, Berti G. Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clinical Chemistry*. 1 févr 1980;26(2):227-231.
- [21] Maxim L, van der Sluijs JP. Uncertainty: Cause or effect of stakeholders' debates? *Science of The Total Environment*. avr 2007;376(1-3):1-17.
- [22] Meyer A, Chrisman J, Moreira JC, Koifman S. Cancer mortality among agricultural workers from Serrana Region, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Environmental Research*. nov 2003;93(3):264-271.
- [23] Achliya GS, Wadodkar SG, Dorle AK. Evaluation of hepatoprotective effect of Amalkadi Ghrita against carbon tetrachloride-induced hepatic damage in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. févr 2004;90(2-3):229-232.
- [24] Pratt DS, Kaplan MM. Evaluation of Abnormal Liver-Enzyme Results in Asymptomatic Patients. *N Engl J Med*. 27 avr 2000;342(17):1266-1271.
- [25] Hunter A, Uilenberg G, Meyer C. La santé animale 2 [Internet]. éditions Quae; 2006 [cité 11 avr 2020]. Disponible sur:<https://www.quaeopen.com/produit/61/9782759151196/la-sante-animale-2>
- [26] Green RM, Flamm S. AGA technical review on the evaluation of liver chemistry tests. *Gastroenterology*. oct 2002;123(4):1367-1384.
- [27] Eissa F, Zidan N. Haematological, biochemical and histopathological alterations induced by abamectin and *Bacillus thuringiensis* in male albino rats. *Acta Biologica Hungarica*. mars 2010;61(1):33-44.
- [28] Bobryshev YV. Monocyte recruitment and foam cell formation in atherosclerosis. *Micron*. avr 2006;37(3):208-222.
- [29] Grub S, Persohn E, Trommer WE, Wolf A. Mechanisms of Cyclosporine A-Induced Apoptosis in Rat Hepatocyte Primary Cultures. *Toxicology and Applied Pharmacology*. mars 2000;163(3):209-220.
- [30] Christopher CL, Mathuram LN, Genitta G, Cyrus I, Jaya Sundar S. Omega-3 polyunsaturated fatty acids inhibit the accumulation of PAS-positive material in the myocardium of STZ-diabetic wistar rats. *International Journal of Cardiology*. avr 2003;88(2-3):183-190.
- [31] Alvarez-Llamas G, Zubiri I, Maroto AS, de la Cuesta F, Posada-Ayala M, Martin-Lorenzo M, et al. A role for the membrane proteome in human chronic kidney disease erythrocytes. *Translational Research*. nov 2012;160(5):374-383.
- [32] Jaballi I, Ben Saad H, Bkhairia I, Kammoun I, Droguet M, Magné C, et al. Increasing maneb doses induces reactive oxygen species overproduction and nephrotoxicity in adult mice. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 13 juin 2017;27(5):382-393.
- [33] Pritchard JC, Burn CC, Barr ARS, Whay HR. Haematological and serum biochemical reference values for apparently healthy working horses in Pakistan. *Research in Veterinary Science*. déc 2009;87(3):389-395.
- [34] Ben Saad H, Gargouri M, Kallel F, Chaabene R, Boudawara T, Jamoussi K, et al. Flavonoid compounds from the red marine alga *Alsidium corallinum* protect against potassium bromate-induced nephrotoxicity in adult mice: *Alsidium corallinum* PROTECT AGAINST KBrO₃-INDUCED NEPHROTOXICITY. *Environmental Toxicology*. mai 2017;32(5):1475-1486.
- [35] Weber M, Dindo D, Demartines N, Ambühl PM, Clavien P-A. Kidney Transplantation from Donors without a Heartbeat. *N Engl J Med*. 25 juill 2002;347(4):248-255.
- [36] Yengkhom R, Singh P, Muwel N, Raje K, Handique B, Venkateswaran K. Supplementation of Brown Seaweed (*Turbinaria conoids*) Powder and its Effect on Blood Metabolites and Mineral Profile in Adult Goats. *Ind Jour of Anim Nutr*. 2019;36(1):103.
- [37] Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss M. Clinical biochemistry of domestic animals [Internet]. Amsterdam; London: Academic; 2008 [cité 11 avr 2020]. Disponible sur: <http://www.dawsonera.com/depp/reader/protected/external/AbstractView/S9780080568829>
- [38] Schropp DM, Kovacic J. Phosphorus and phosphate metabolism in veterinary patients. *J Veter Emer Crit*. juin 2007;17(2):127-134.