



République Algérienne Démocratique et Populaire

N série:.....

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي

Université EchahidHamma Lakhdar -El OUED

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : Toxicologie

THEME

**Evaluation de l'effet toxique de l'essence exposé
par voie cutanée chez les rattes *Wistar***

Présentés Par :

Melle BAKINI Hafsa

Melle LACHRAF Zineb

Devant le jury composé de :

Président :	Mr. SAADI Hamza	(M.A.A) Université d'El Oued.
Examineur :	Dr. DEROUCHE Samir	(M.C.A) Université d'El Oued.
Promotrice :	Dr. GUEMMOUDA Messaouda	(M.C.B) Université d'El Oued.

Année universitaire 2018/2019

DÉDICACE

Je dédie ce travail

À ceux qui sont la source de mon inspiration et mon courage

À qui je dois de l'amour et la reconnaissance

À ma très chère Mère et à mon cher Père

À mes sœurs et mes frères

À tous les membres de ma belle-famille

*À tous mes amis(Hadjer) et mes camarades de la 1^{ère} promotion
master*

Toxicologie 2019 pour tous les moments de joies et de peines

Qu'on a passées ensemble

À tous mes enseignants durant ma formation d'étude

À tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

.Zineb



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

*À ceux qui sont la source de mon inspiration
et mon courage. À qui je dois de l'amour et la
reconnaissance.*

*À ma très chère **Mère** et à mon cher
Père.*

*À Mes frères, surtout mon frère
Rostom et Ala Edine et ma
sœur.*

*Tous les membres de ma famille
sans exception..*

BAKINI Hafsa

Remerciement

*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et
Qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.
Nous tenons à remercier notre encadreur Dr : GEMMOUDA Messaouda son
précieux conseil et son aide durant toute la période du travail.
Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury
(Mr. SAADI Hamza et Mr. DEROUICH Samir) pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre
recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs
propositions.*

*Nous tenons à remercier profondément tout qui nous aide pour faire ce travail,
notre collègue Hezla Faouzi, les travailleurs du laboratoire de la faculté des
Sciences de la nature et de la vie, université Echahid Hamma Lakhdar d'EL-
OUED.*

*Nous n'oublions pas nos parents pour leur contribution, leur
soutien et leur patience. Ainsi que toute les personnes
Ayant participées de près ou de loin à la
Réalisation de ce travail.*

Hafsa et Zineb



Résumé

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet toxique de l'essence à la suite d'une exposition cutanée chez les rattes *Wistar Albinos*. L'expérimentation réalisée sur 10 rattes divisées en 02 groups : 04 rattes témoin et 06 rattes traité, les dernies sont subissent une période de traitement de 1 moins avec un plan d'application (2 foie/ semaine). Les résultats obtenus montrer une augmentation significative ($p < 0,05$) dans le nombre de GR, lymphocyte et monocytes, et une augmentation hautement significative ($p \leq 0,01$) dans le nombre de GB, avec aucune changement dans le taux d'hémoglobine ($p > 0,05$). En revanche on note une diminution des indices érythrocytaires traduit sauf le volume globulaire moyen (VGM) ne sera pas touché. L'essence induit une perturbation dans le paramètres de stress oxydatif, qui traduit par la diminution du taux de glutathion réduit (GSH) d'une façon significatif ($p \leq 0,05$) dans le foie et non significatif ($p \geq 0,05$) dans le rein, au contraire, une augmentation significatif ($p \leq 0,05$) de taux de l'MDA est observé dans le rein, avec une augmentation non significative ($p > 0,05$) dans le foie. De plus, les coupes histologiques montrent la présence de réaction inflammatoire au niveau de la peau de rattes traitées.

Mots clés : Essence, *Wistar Albinos*, la peau, stress oxydatif, indices érythrocytaires, réaction inflammatoire.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة الآثار السمية الناجمة عن التعرض للبنزين عن طريق الجلد لدى جرذان التجارب من نوع *Wistar Albinos*. أجريت هذه التجربة على عشرة إناث من الجرذان مقسمة إلى مجموعتين: مجموعة مكونة من أربعة جرذان شاهدة سليمة, و ستة جرذان معالجة حيث عرضت هذه الأخيرة إلى البنزين لمدة شهر بمعدل تعرض مرتين في الأسبوع. أثبتت النتائج المتحصل عليها ارتفاعا ($p < 0,05$) في عدد كل من: كريات الدم الحمراء, الخلايا اللمفاوية و الخلايا الأحادية, مصحوبة بارتفاع ($p \leq 0,01$) مهم في عدد كريات الدم البيضاء. مع عدم ملاحظة اي تغيير في تركيز الهيموغلوبين في الدم. من جهة أخرى لاحظنا انخفاضا معتبرا في مؤشرات كريات الدم الحمراء ماعدا الحجم المتوسط للكريات (VGM) فلم يتغير. أثر البنزين سلبا على مؤشرات الإجهاد التأكسدي و ذلك من خلال خفض تركيز GSH في الكبد ($p \leq 0,05$) مع تسجيل انخفاض مهم على مستوى الكلية ($p > 0,05$) , و رفع تركيز MDA في الكلية ($p \leq 0,05$) مع تسجيل ارتفاع غير معتبر في الكبد ($p > 0,05$). بالإضافة إلى المقاطع التشريحية التي برهنت بدورها على وجود التهابات على مستوى الجلد للجرذان المعالجة.

الكلمات المفتاحية: البنزين, *Wistar Albinos*, الجلد, الإجهاد التأكسدي, مؤشرات كريات الدم الحمراء, تفاعل التهابي.

LISTE DES ABREVIATIONS

¹O₂: l'oxygène singlet.

ACD: dermatite de contacte allergique.

ADN: Acide désoxyribonucléique.

AGPI : Acide gras polyinsaturés .

ASTMP : American Society for Testing and Materials.

ATP : Adénosine triphosphate

ATSDR : Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

BBC : bleu brillant de coomassie.

CAT: Catalases.

CAS : chemical Abstracts Service.

CCHST : Centre canadien d'hygiène et de sécurité du travail.

CICR : Centre International de recherche sur le Cancer.

CSM : Compendium Suisse des Médicaments.

DAI: dermatite de contacte irritante.

EDTA : Éthylène Diamine Tétra-Acétique.

ERO : Espèces réactives oxydantes.

Fe²⁺ : Fer ferreux.

Fe³⁺ : Fer ferrique.

FNS : Formule de Numération Sanguine.

Ft : femtolitres = 10⁻¹⁵

GEH : Groupe Europ Hygiène.

GPx : Glutathion Peroxydase.

G6PD : glucose-6-phosphite déshydrogénase.

GSH : Glutathion réduit.

GS-SG: Glutathionoxydé.

GST : glutathion-S-transférase.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

HO₂•:Hydroperoxyde.

HAP : Hydrocarbure Aromatique Polycyclique.

Hb: Hémoglobine.

HE : Hématéine-Eosine.

HT :Hématocrite .

HCl: Acide Chlorhydrique.

HOCl : Ion hypochlorite .

IL-1,6 : Interleukin-1,6.

INERIS : Institut national de l'environnement industriel et des risques

INRS : Institut National de recherche de sécurité.

JOUE : Journal officiel de l'Union européenne.

LDL : lipoprotéines de densité légère.

M : poids moléculaire.

MDA : Malondialdéhyde.

MTBE : méthyl tert-butyl éther .

Mn : manganese.

MPO: Myéloperoxydase.

μmol: Micromole.

NADPH: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit.

NOR : Nombre d'Octane Research.

NOM: Nombre d'Octane Moteur.

O₂•: Radical superoxyde.

O₂ : l'oxygène moléculaire.

O₂•- : Radical anion superoxyde.

O₃: Ozone.

OFCL : Office Federal de la santé Publique.

OH• : Radical hydroxyle.

ONOO- : Ion peroxydinitrite.

ONOOH: Acide peroxydinitreux.

PI : Point Initial.

PF : Point Final.

PPmv : Parti par million en volume .

PTE : Tétra-Ethyle de Plomb.

Pg : pictogramme

RO : alkoxyle.

RONS : Réactive Oxygen and Nitrogène Species.

ROO• : Radical peroxyde.

ROOH : Hydroperoxyde lipidique.

ROS : Espèces réactives de l'oxygène.

SOD: Superoxyde Dismutase.

TBA: Thiobarbiturique.

TBARS : thiobabaturic reactive species.

TNF- α : facteur alpha nécrosant des tumeurs.

TVR : Tension de Vapeur Reid.

VLEP : Valeur limite d'exposition Professionnelle.

WHO : World Health Organization.

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
Figure 01	Paraffine « huile minérale ».	09
Figure02	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.	19
Figure 03	Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules.	20
Figure 04	Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux.	21
Figure 05	Structures chimiques du glutathion réduit (GSH).	25
Figure06	Schéma récapitulatif d'étapes de traitement et le prélèvement des échantillons étudiés.	29
Figure 07	Nombre des GR, et le taux HB chez les rattes témoins et traitées	36
Figure 08	Nombre des cellules immunitaires (GB, lymphocytes, monocytes) chez les rattes témoin et traitées	38
Figure 09	Taux de CCMH chez les rattes témoins et traitées	39
Figure 10	Taux de TCMH et le VGM chez les rattes témoins et traités.	40
Figure 11	Taux de glutathion réduit GSH dans le foie et les reins des rattes témoins et traités.	41
Figure 12	Taux de Malondialdéhyde MDA dans le foie et les reins des rattes traites et témoins.	42
Figure 13	Observation microscopique d'une coupe histologique de peau, indique les changements morphométriques après traitement par l'essence, agrandissement x40.	44
Figure 14	Observation microscopique d'une coupe histologique de peau des rattes témoins.	44

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau 01	Caractéristique de l'essence normale.	06
Tableau 02	Caractéristique de l'essence sans plomb.	07
Tableau03	Exemple de composition d'une essence par famille chimique.	08
Tableau 04	Espèces réactives de l'oxygène (ERO) radicalaires et non-radicalaires	18
Tableau 05	Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage.	32

SOMMAIRE

Remerciements	
Dédicaces	
Résumés	
Liste d'abréviation	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	01

PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralité sur l'essence et sa toxicité	
I. Définition	05
I.2. Différentes formes d'essences	04
I.2.1. Essence ordinaire	05
I.2.2. Essence supercarburant (plombé)	05
I.3. Caractéristiques de l'essence	06
I.4. Composition de l'essence	08
I.4.1. Paraffine	09
I.4.1.1. Définition	09
I.4.1.2. Toxicité	09
A. Effets de l'exposition aigue	09
B. Effets de l'exposition chronique	10
C. Effets indésirables	10
I.4.2. Naphthalène	11
I.4.2.1. Définition	11
I.4.2.2. Toxicité	11
A. Toxicité aigue	11

B. Toxicité chronique	12
C. Effets cancérogènes	12
D. Effets sur la reproduction	12
I.4.3.Oléfines	13
I.4.3.1.Définition	13
I.4.3.2. La Toxicité	13
I.4.4. Hydrocarbures aromatiques	13
I.4.4.1. Benzène C ₆ H ₆	13
I.4.4.1.1.Définition	13
I.4.4.1.2. Toxicité	14
I.5. Effets de l'essence sur la santé	14
I.5.1.Effets d'une exposition aigue	14
a) Inhalation	14
b) Contact avec la peau	15
c) Ingestion	15
I.5.2. Effets d'une exposition chronique	15
Chapitre II : Stress Oxydatif	
II.1. Définition	17
II.2. Radicaux libres	17
II.3. Conséquences du stress oxydatif	19
II.3.1. Oxydation de l'ADN	19
II.3.2. Oxydation des lipides	20
II.3.3. Oxydation des protéines	22
II.4. Système de défense antioxydant	23
II.4.1. Systèmes de défense enzymatique	24
II.4.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)	24
II.4.1.2. Catalases	24
II.4.1.3. Glutathions peroxydases	24

II.4.2. Systèmes de défenses non enzymatiques	25
II.4.2.1. Glutathion réduit (GSH)	25

DEUXIEME PARTIE : PARTIE PRATIQUE

Chapitre I : Matériels et méthodes	
I.1. Matériels	28
I.1.1. Animaux de laboratoire et les conditions d'élevage	28
I.2. Méthodes	28
I.2.1. Traitement des rattes	28
I.2.2. Prélèvement sanguin	28
I.2.3. Sacrifices des rattes	28
I.2.4. Paramètre hématologique	30
I.2.5. Paramètres du stress oxydatif	30
I.2.5.1. Dosage du Glutathion réduit (GSH)	30
I.2.5.2. Dosage du Malondialdéhyde (MDA)	31
I.2.6. Dosages des protéines	32
I.3. Analyse histologique	32
I.4. Analyse statistique	34
Chapitre II : Résultats et Discussion	
II. Résultats et discussion	36
II.1. Paramètres hématologiques	36
II.2. Paramètres du stress oxydatif	40

II.2.1. Dosage du taux de GSH	41
II.2.2. Dosage du taux de MDA	42
II.3. études histologique	43

Conclusion générale.....	46
Références bibliographiques.....	48
Annexe I.....	59
Annexe II.....	59
Annexe III.....	60
Annexe IV.....	60
Annexe V.....	61
Résumé et mots-clés	

Introduction

l'essence joue un rôle important dans la vie quotidienne, dans le monde. Où nous sommes autorisés à utiliser la puissante source d'énergie nous permet de nous déplacer, et de nous chauffer, et constitue aussi un composant important de produits que nous utilisons tous les jours, comme la colle et adhésifs, peintures et vernis, imprimerie, produits d'entretien, agents d'extraction, caoutchouc, teinturerie et nettoyage, parfumerie (INRS., 1999), produits d'entretien: cirages, encaustiques, produits pharmaceutiques, insecticides, bactéricides (INRS, 2011).

Le domaine esthétique/cosmétique est intéressé à entretenir une belle apparence corporelle à l'aide des produits de beauté ou cosmétiques (JOUE, 2009), formés essentiellement de mélange des produits chimiques ou des préparations traditionnelles à base des plantes, ces derniers sont les plus préférés chez la plupart des femmes arabes en générales et les femmes de notre wilaya (El-Oued) en particulier. Elles sont utilisées divers plantes pour améliorer leur beauté ou bien de décorer leur corps. L'exemple le plus répandu dans notre région saharienne est El-Hanna sous le nom scientifique *Lawsonia inermis*, est une petite plante utilisée comme un colorant pour décorer n'importe quelle partie du corps.

Généralement, la poudre des feuilles de cette plante mélangée avec l'eau et quelques gouttes de jus de citron pour l'obtention d'une pâte appliquer directement sur la peau. Voyant qu'El-Hanna elle donne une teinte brune, orange ou rougeâtre, les femmes doivent ajouter d'autres ingrédients pour obtenir d'autres couleurs, telles que le noir la plus favorable couleur chez elles, et pour cela les femmes ajoutent l'essence d'automobile comme un ingrédient supplémentaire pour noircir El-Hanna.

Les études toxicologiques indiquent que les composés volatils présentés dans l'essence (benzène, toluène, éthylbenzène et xylène (BTEX)) sont les composants les plus toxiques pour l'homme (Azari *et al.*, 2012).

Selon OFCL (2006) le benzène est une substance cancérigène contenue dans l'essence, qui peut être absorbée par l'organisme, en particulier par voie cutanée, mais aussi par les voies respiratoires. En plus, l'utilisation d'essences pour moteurs peuvent avoir des inflammations cutanées sur la peau sèche ou irritée (OFCL, 2006).

En addition, les différents hydrocarbures pétroliers peuvent être responsables d'effets génotoxiques, d'anomalies de développement, de cancers et d'altérations des capacités

Introduction

reproductives et du système immunitaire. Ces composés sont bio-accumulables et potentiellement transmissibles à l'humain via la chaîne trophique **(De Pontevès *et al.*, 2005 ; INERIS, 2005 ; Sparfel, 2016)**. Le plomb aussi considéré comme un additif toxique pour de multiples systèmes organiques, dont le système nerveux central et le cerveau, l'appareil reproducteur, les reins, le système cardiovasculaire, le système sanguin et le système immunitaire **(WHO, 2018)**.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet toxique de l'essence par voie cutanée à la suite d'une exposition subaiguë chez les rattes (femelles) de *Wistar Albinos*. En basant sur les changements des paramètres hématologiques et les paramètres de stress oxydatif.

Ce travail est divisé en deux parties. La première partie est consacrée à la synthèse bibliographique qui comporte deux chapitres. Le premier chapitre intéresse d'une généralité sur l'essence et sa toxicité. Le 2^{ème} chapitre parlé sur le stress oxydatif et ses biomarqueurs. La deuxième partie est consacrée à la partie expérimentale qui contient deux chapitres en ordre (Matériels et Méthodes, Résultats et discussion). Et fin, on termine par une conclusion générale.

Première Partie :

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Généralité sur l'essence et sa toxicité

I.1. Définition

Les essences sont des mélanges d'hydrocarbures, (**Watson et Janota, 1982**), utilisée comme carburant issu du raffinage du pétrole qui peut alimenter un moteur thermique ou les moteurs à combustion interne à allumage commandé. Celui-ci transforme l'énergie chimique du carburant en énergie mécanique. (**Guibet, 2011**), et la formule chimique équivalente de l'essence est le $C_{6,75} H_{12,99}$ (**Serras et al., 2013**).

On y trouve en moyenne : 20 à 30 % d'alcanes, hydrocarbures saturés ; 5 % des cycloalcanes, hydrocarbures saturés cycliques ; 30 à 45 % d'alcènes, hydrocarbures non saturés ; 30 à 45 % d'hydrocarbures aromatiques de la famille du benzène (**Watson et Janota, 1982**).

I.2. Différentes formes d'essences

Il existe plusieurs formes d'essence, dont certaines, comme l'essence ordinaire et le supercarburant (plombé).

I.2.1. Essence ordinaire

✓ **Essence ordinaire ou normale** elle est composée essentiellement d'un mélange d'hydrocarbures de structures variées (paraffiniques, oléfiniques, naphthéniques, aromatiques (4% de benzène) distillant à moins de 205 °C, auquel est ajouté entre autres un dope antidétonant à base de plomb. L'efficacité de la combustion est caractérisée par l'indice d'octane situé entre 89 et 92 (**Pilorget et al., 2007**).

I.2.2. Essence supercarburant (plombé)

✓ Le **super** est de même nature que l'essence ordinaire, mais obtenu par un procédé de raffinage spécial afin d'améliorer l'indice d'octane qui est de 97 à 99. Sa composition diffère de l'essence par : la teneur en benzène plus élevée (4 à 6 %) due à la diminution du taux de plomb ; la teneur en soufre plus élevée (0,5 %) (**Pilorget et al., 2007**)

✓ Le **Super sans plomb** a totalement supplanté le super avec plomb. Les additifs utilisés sont le MTBE (méthyltert-butyléther), additif le plus employé, et le benzène, ajouté en vue d'améliorer l'indice d'octane (**Pilorget et al., 2007**).

I.3. Caractéristiques de l'essence

L'essence est un mélange d'hydrocarbures volatiles et inflammables ayant des points d'ébullition entre environ 30°C (point initial) et 215°C (point final) ; elles renferment des hydrocarbures de C4 à C10 (**Guibet, 2011**).

La masse volumique, la courbe de distillation et la pression de vapeur des essences constituent les caractéristiques physiques les plus importantes pour obtenir, à la fois, un fonctionnement satisfaisant du véhicule et une faible émission d'hydrocarbures par évaporation (**Guibet, 2011**). Sa température de distillation se situe entre 35 et 200 °C (**Anonyme1, 2006**). En plus, l'essence est un liquide incolore ayant une odeur caractéristique comme elle peut être colorée en jaune (**Guibet, 2011**).

Les spécifications de l'essence normale et de l'essence sans plomb sont représentées dans les tableaux suivants :

Tableau 01 : Caractéristique de l'essence normale (Anonyme2, 2002**).**

Caractéristiques moyennes	moyennes Essence normale	Supercarburant
Densité à 15°C	0.7259	0.7685
T.V.R. (Hiver/Eté) bars à 37.8°C	0.6 5/0.80	0.65/0.80
PTE % Poids	0.04	0.04
N.O.R	90.0	96.4
Distillation ASTM P.I. °C	34	38
10%	51	62
20%	60	75
30%	68	89
50%	89	112
65%	107	128

70%	113	134
90%	148	157
95%	164	174
P.F(point finale)	178	182
% distillé	98	98
% pertes	02	02
Teneur en soufre ppm	100	100
Teneur en plomb g/l	0.4	0.4
Masse volumique Kg/m3	710- 765	730-770

Tableau 02 : Caractéristique de l'essence sans plomb (Sonatrach, 2012).

Caractéristiques moyennes	Essence sans plomb
Densité	0.65
Masse volumique (g/l)	725/ 780
NRO	95
NOM	85
Benzène % Vol	5
T.V.R. (Hiver/Été) bars à 37.8°C	0.65/ 0.8
Distillation ASTM °C	
15%	70

40%	100
85%	180
90%	210
Point final	125
Teneur en soufre (ppm)	100

I.4. Composition de l'essence

L'essence est un mélange complexe d'hydrocarbures auxquels sont parfois ajoutés d'autres produits combustibles ou adjuvants. Sa composition dépend de l'origine géographique du pétrole et les procédés de raffinage utilisés. Un distillat de pétrole est composé de molécules paraffiniques isolées, des noyaux aromatiques, naphténiques et des oléfines (Tableau03).

Tableau 03 : Exemple de composition d'une essence par famille chimique.

(Guibet, 1997)

Composition par famille chimique	volume en %
Paraffines	40-65%
Naphtènes	0-5%
Oléfines	0-20%
Aromatiques	15-45%

I.4.1. Paraffine**I.4.1.1. Définition**

Selon la 6eme édition de la pharmacopée, c'est un mélange purifié d'hydrocarbures saturés liquides obtenus à partir du pétrole (**Pharmacopée Européenne, 2008**).

Le paraffine liquide est une huile minérale composée d'un mélange d'hydrocarbures aliphatiques saturés (C14–C18) et cycliques tirés du pétrole (isoalcanes et cycloalcanes), (**Rowe et al., 2003**), peut s'enflammer s'il est chauffé fortement et en présence d'une source d'ignition.

C'est un liquide huileux, incolore, utilisé dans la fabrication des lubrifiants, produits d'entretien, bougies, enduits inattaquables par les acides (**Frederic, 2004**) transparent, pratiquement insoluble dans l'eau (**figure 01**)(**Pharmacopée Européenne, 2001**).

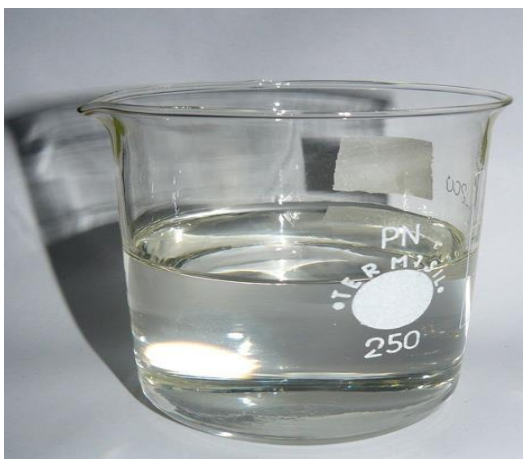


Figure 01. Paraffine (huile minérale).

I.4.1.2. Toxicité

Les premières voies d'absorption c'est : la Peau et les yeux. La Valeur limite d'exposition : 2 mg/m³ (Cette valeur s'applique pour la fumée de cire de paraffine) (**LMI, 2014**).

A. Effets de l'exposition aigue

Yeux : Irritation

Peau : Irritation

Respiration : Les vapeurs de combustion peuvent entraîner une irritation des muqueuses et des voies respiratoires.

Ingurgitation : Irritation des muqueuses. Désordres gastro-intestinaux, crampes, diarrhées, maux de tête, nausées et vomissement (**LMI, 2014**).

B. Effets de l'exposition chronique

L'inhalation chronique des vapeurs de combustion peut entraîner les effets suivants : toux, expectoration, dyspnée d'effort et possibilité de lésions pulmonaires à long terme (pneumonie lipoïdique) (**LMI, 2014**).

C. Effets indésirables

La paraffine liquide est généralement bien tolérée. Les effets indésirables rapportés sont les suivants : (**Sharif et al., 2001**)

1. Le suintement anal et prurit péri-anal.

2. Les troubles de l'absorption de vitamines liposolubles. Cette interaction médicamenteuse est systématiquement citée dans les monographies sur la paraffine.

3. La pneumonie lipoïde. Il s'agit d'une pathologie plutôt rare, caractérisée par la présence de vacuoles de lipides et de cellules inflammatoires au niveau des poumons (**CSM, 2004**). Cette maladie est entraînée le plus fréquemment par l'aspiration ou l'inhalation d'huile minérale provenant du milieu professionnel ou d'un médicament. Près de la moitié des patients sont asymptomatiques (**CSM, 2004**). L'autre moitié présente des symptômes peu spécifiques comme une toux chronique, parfois productive et une dyspnée (**Wolinsky, 1994**), les autres manifestations cliniques, telles que pics de fièvre, douleurs à la poitrine et hémoptysies sont vraisemblablement secondaires à la réaction inflammatoire. Le diagnostic peut être confirmé par bronchoscopie et lavage broncho-alvéolaire (**Bandla, 1999**).

4. Le dépôt de paraffine dans les intestins et le foie. Une note parue dans le **Lancet en 1990, (Notice board, 1990)**, rapporte que le Committee on Safety of Medicines a restreint les indications de la paraffine. Un usage prolongé pourrait induire des granulomes dans l'intestin et le système réticulo-endothélial (**Trivalle et al., 1991**).

I.4.2. Naphtalène

I.4.2.1.Définition

Le naphtalène est un hydrocarbure aromatique polycyclique (HAP) à deux cycles benzéniques dont la formule moléculaire est $C_{10}H_8$ (poids moléculaire $M = 128$ g/mole). Le facteur de conversion entre parties par million en volume (ppmV) et concentrations massiques en milligramme par mètre cube d'air (mg/m³) est à 25°C et 101,3 kPa : 1 ppm = 5,24 mg/m³ soit 5 240 µg/m³.

Le naphtalène se présente sous diverses formes solides (cristaux, poudre, aiguilles ou écailles), de couleur blanche et d'odeur caractéristique de goudron. Il se sublime à température ambiante.

Le naphtalène est un constituant du goudron de houille (11 %) et du pétrole brut (1,3 %). Il peut donc être obtenu à partir de ces deux produits par distillation fractionnée. La distillation du goudron est le moyen de production le plus répandu. La fraction la plus riche en naphtalène est refroidie et le naphtalène cristallisé recueilli est raffiné par distillation, lavage ou sublimation. Depuis 1960, la production à partir du pétrole par désalkylation des méthylnaphtalènes en présence d'hydrogène à hautes température et pression s'est également développée (El-Masri *et al.*, 2003).

I.4.2.2.Toxicité

A. Toxicité aigue

L'ingestion est suivie de troubles digestifs (nausées, vomissements, douleurs abdominales et diarrhées). Pour des doses importantes sont susceptibles de survenir, en plus, des troubles de conscience pouvant conduire au coma convulsif.

Une hémolyse peut compliquer chez les sujets ayant un déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) et se traduire par une insuffisance circulatoire aiguë et une néphropathie (Absence d'urine dans la vessie, soit par arrêt de l'excrétion urinaire des reins , soit par l'existence d'un obstacle sur les voies urinaires (uretères) (**Dictionnaire Medical, 2019**), une atteinte hépatique est exceptionnelle(**ECB, 2003**).

Un certain nombre d'articles signalent que le produit est irritant par voie cutanée chez l'homme. Les sources d'information ne sont cependant pas citées ou trouvables.

Il est aussi traditionnellement rapporté que le produit peut entraîner une irritation oculaire. L'étude des articles sources montre qu'il est plus signalé des opacités du cristallin (ECB, 2003).

B. Toxicité chronique

Quelques cas de malaises, de céphalées et de vomissements ont été rapportés après expositions répétées. Plusieurs cas d'anémies hémolytiques ont été publiés suite à une exposition à des vapeurs de naphthalène, généralement chez des nouveau-nés. Certains présentaient un déficit en G6PD.

Une étude rapporte des effets oculaires parmi 21 ouvriers exposés par voie cutanée et atmosphérique durant une à cinq années. Des opacités du cristallin ont été observées chez huit d'entre eux. La plupart présentaient des opacités localisées périphériques, sans conséquence sur l'acuité visuelle. Deux étaient cependant porteurs d'une véritable cataracte. Il n'est pas précisé si la fréquence de ces effets était significativement différente de celle rencontrée dans la population générale. D'autres anomalies visuelles (INRS, 2005).

C. Effets cancérogènes

Il n'existe pas d'étude épidémiologique publiée. Un article rapporte quatre cas de cancers du larynx chez des ouvriers travaillant dans la purification du naphthalène. Aucune conclusion ne peut en être tirée, ces personnes étant des fumeurs exposés à d'autres polluants (ATSDR, 2006).

D. Effets sur la reproduction

Deux cas de nouveau-nés présentant une anémie hémolytique ont été publiés. Leurs mères avaient été exposées par ingestion volontaire, à une dose probablement élevée, au naphthalène durant le 3^{ème} trimestre de la grossesse. Dans un cas, la mère présentait un déficit en G6PD, dans l'autre cette donnée n'était pas précisée mais elle présentait une anémie hémolytique (WHO, 1998).

I.4.3. Oléfines

I.4.3.1. Définition

Les oléfines ($C=C$), ce sont des hydrocarbures insaturés présentent une grande activité chimique du fait d'une ou plusieurs doubles liaisons de l'atome C, sont appelées, dans la nomenclature officielle, alcènes ou cyclènes, selon qu'elles se présentent sous forme de chaînes ou de cycles. Leur formule générale est C_nH_{2n} , Ils sont rares à l'état naturel (**Jacques, 2019**)

L'alcène est plus important sur le plan industriel. Il est produit par craquage d'hydrocarbures. Environ la moitié de l'éthène produite est utilisée pour préparer les polyéthylènes (basse densité et haute densité) (**Dupuis, 2015**), et utilisé comme produit de nettoyage.

I.4.3.2. La Toxicité

Mode d'exposition dominant : Contact avec la peau et les yeux, inhalation, les symptômes liés à l'utilisation (**FDS-GEH, 2007**) sont :

- ▶ Inhalation : Non considéré comme dangereux à l'inhalation dans des conditions normales d'utilisation.
- ▶ Contact avec la peau : Non considéré comme particulièrement dangereux au contact de la peau dans des conditions normales d'utilisation.
- ▶ Contact avec les yeux : Légèrement irritant au contact direct avec les yeux. Larmes. Rougeur.
- ▶ Ingestion: Douleurs abdominales, nausées.

I.4.4. Hydrocarbures aromatiques

Les hydrocarbures aromatiques de formule générale C_nH_{2n-6} ; contiennent un ou plusieurs cycles insaturés à 6 atomes de carbone du même type que celui qui constitue le benzène C_6H_6 . Parmi les composés aromatiques très courants, il faut citer : le benzène (**Vignes et al., 2005**).

I.4.4.1. Benzène C_6H_6

I.4.4.1.1. Définition

Le benzène est un hydrocarbure aromatique monocyclique, de formule C_6H_6 , également noté Ph-H, ϕ -H ou encore Ar-H. C'est un solvant très utilisé dans la synthèse chimique des médicaments, des plastiques, des caoutchoucs synthétiques, ou encore de colorants. Le

benzène est un constituant naturel du pétrole brut, mais il est généralement synthétisé à partir d'autres composés organiques présents dans le pétrole (INERIS, 2006).

Il porte le numéro de registre 71-43-2 du CAS (Chemical Abstracts Service). Il s'agit d'un liquide volatil, transparent, inflammable et incolore à la température ambiante, d'odeur aromatique (Mackay *et al.*, 1992). Un grand nombre de composés chimiques très importants dans l'industrie sont obtenus en remplaçant un ou plusieurs atomes d'hydrogène du benzène par d'autres groupements fonctionnels (INERIS, 2006).

I.4.4.1.2. Toxicité

Le benzène est désormais considéré comme une substance toxique sans seuil de toxicité, car il est susceptible d'entraîner des effets nocifs quel que soit le degré d'exposition. Le Centre International de Recherche sur le Cancer (CICR) a classé le benzène dans le groupe 01 (INRS, 1993).

L'inhalation d'un taux très élevé de benzène peut causer la mort ; des taux moins élevés peuvent occasionner des somnolences, des vertiges, une accélération du rythme cardiaque, des maux de tête, des tremblements, la confusion ou la perte de connaissance (Jean-Louis, 2017).

La dose létale par ingestion est de 50 mg/kg La valeur limite d'exposition professionnelle (VLEP) sous forme de vapeur dans l'air pour une exposition quotidienne de 08 heures par jour est de 1 ppm soit 3,25 mg/m³ ; elle est inférieure au seuil de détection olfactif qui est d'environ 5 ppm (Jean-Louis, 2017). De nombreuses études épidémiologiques attestent de l'origine benzénique de nombreuses hémopathies malignes (leucémies myéloïdes chroniques, leucémies lymphoïdes chroniques, leucémies aiguës) survenant chez des sujets exposés (INRS, 1993).

I.5. Effets de l'essence sur la santé

I.5.1. Effets d'une exposition aiguë

a) Inhalation

Peut irriter le nez et la gorge. Peut affecter le système nerveux. Les symptômes peuvent comprendre des maux de tête, des nausées, des étourdissements, de la somnolence et de la confusion. Une exposition sévère peut causer une perte de conscience (CCHST, 2019).

b) Contact avec la peau

Peut causer une légère irritation. Une exposition prolongée ou répétée peut irriter la peau. L'absorption par la peau ne devrait pas se produire. Tout contact avec la peau comporte également une importante exposition par inhalation (CCHST, 2019).

c) Ingestion

Peut irriter la bouche, la gorge et l'estomac. Peut causer des effets comme ceux qui sont décrits pour l'inhalation.

I.5.2. Effets d'une exposition chronique

Peut causer une peau sèche, rougeâtre et gercée (dermatite) à la suite d'un contact cutané. Des effets neurotoxiques de l'abus volontaire à long terme, ou de l'inhalation d'essence. Les effets sur le sang, qui ont été présentés dans quelques études, sont fort probablement causés par la présence de benzène ou de plomb dans l'essence (CCHST, 2019).

Peut causer le cancer, selon les données animales. A été associé au cancer du sang ou du système sanguin, et au cancer du rein (CCHST, 2019).

Chapitre II

Stress Oxydatif

II.1. Définition

Selon **Sies et Jones (2007)** le stress oxydatif est défini comme, étant la déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants en faveur des oxydants, entraînant une perturbation de la signalisation redox et du contrôle et / ou des dommages moléculaires. De plus, Le terme «stress oxydant» implique que l'équilibre physiologique entre la création de ROS et la capacité de détoxifier ces molécules a été perturbé, ce qui a entraîné un stress et des dommages pour les systèmes cellulaires. Il est important de noter que cela peut indiquer soit une élévation anormale de la génération de ROS, soit une déficience des systèmes de défense anti-oxydants (**Jon et al., 2018**).

II.2. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule), qui possède sur son orbite externe un ou plusieurs électrons non appariés. Cette particularité lui confère une réactivité avec les différents constituants de la cellule (**Halliwell et Gutteridge, 2007**). En effet, ces molécules étaient considérées comme des sous-produits toxiques de la chimie *in vivo*, mais sont maintenant considérées comme des régulateurs essentiels de la signalisation cellulaire, et jouent un rôle essentiel dans la facilitation des dommages et des adaptations qui accompagnent un exercice (**Thannickal et al., 2000 ; Powers et al., 2010**).

Les radicaux dérivés d'oxygène représentent la classe la plus importante d'espèces radicalaires générées dans les systèmes vivants (**Miller et al., 1993**). En effet, bien que l'oxygène (Dioxygène) soit indispensable à la vie, paradoxalement il constitue lui-même une source importante de radicaux libres. L'ajout d'un électron à la molécule de dioxygène forme le radical anion superoxyde ($O_2^{\cdot -}$), principalement au niveau de la mitochondrie (**Cadenas et Sies, 1998**).

Les radicaux libres comme l'anion superoxyde sont peu réactifs et jouent un rôle physiologique important en participant à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la différenciation cellulaire, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones, notamment ceux de la mémoire, et à la régulation des gènes (**Drôge, 2002**).

D'autres espèces dérivées de l'oxygène comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ne sont pas des radicaux libres mais sont très réactifs (**Halliwell, 2006**). L'ensemble de ces espèces radicalaires et non radicalaires sont regroupées sous le nom commun d'ERO, le

peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde ($ONOOH$), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (**Favier, 2003**)

(Tableau 04).

Tableau 04 : Espèces réactives de l'oxygène (ERO) radicalaires et non-radicalaires (**Halliwell, 2006**)

Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	
Radicalaire	Non radicalaire
Radical superoxyde $O_2^\bullet$	Peroxyde d'hydrogène : H_2O_2
Radical hydroxyle: $OH^\bullet$	Ion hypochlorite : $HOCl$
Peroxyde: $RO_2^\bullet$	Ozone : O_3
Alkoxyde: $RO^\bullet$	Oxygène singulet: O_2^1
Hydroperoxyde: $HO_2^\bullet$	Peroxynitrite: $ONOO^-$

Les radicaux libre peut être induit par des facteurs endogènes et exogènes, produit à des concentrations faibles / modérées sous forme de signaux moléculaires régulant une série de processus physiologiques, tels que la défense contre les agents infectieux, le maintien du tonus vasculaire, le contrôle de la ventilation et la production d'érythropoïétine, et la transduction du signal à partir des récepteurs membranaires dans divers processus physiologiques (**Djordjević et al., 2008**). De plus, dans certaines situations pathologiques (cancer), la production d'ERO est plus importante et prolongée, et la réponse antioxydant insuffisante. Le déséquilibre est durable. Cette rupture de l'homéostasie redox peut avoir plusieurs origines exogène, tel que : l'intoxication aux métaux lourds, irradiations, la pollution de l'air et de l'eau, le tabac, l'alcool, les drogues (cyclosporine, tacrolimus, gentamycine et bléomycine), les solvants industriels, la cuisine (viande fumée, huiles usées et graisse), et les radiations qui, à l'intérieur du corps, carence en antioxydants apportés par l'alimentation ou anomalies génétiques (**Migdal et al., 2011 ; Phaniendra et al., 2015**). En revanche au niveau moléculaire les sources endogènes de RONS comprennent la nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) oxydase, la

myéloperoxydase (MPO), la lipoxygénase et l'angiotensine II (Salisbury *et al.*, 2015), la NADPH oxydase est la source principale de l'anion superoxyde radicalaire ($O_2^{\cdot -}$) qui se forme lors de la réduction d'un électron de l'oxygène moléculaire, avec des électrons fournis par NADPH, pendant la respiration cellulaire (Liguori *et al.*, 2018) (figure 02).

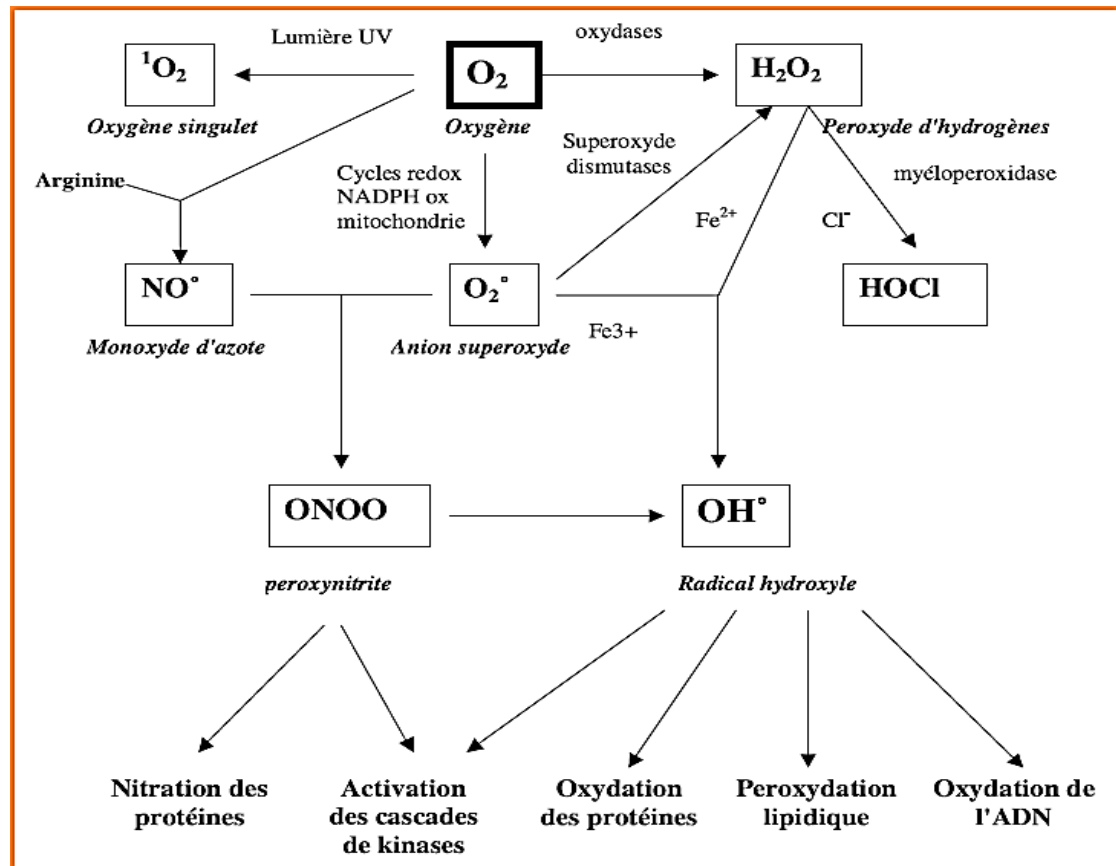


Figure 02. Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003).

II.3. Conséquences du stress oxydatif

Le stress oxydatif peut provoquer la mort cellulaire par altération de l'ADN, peroxydation des lipides et modification de la structure et du fonctionnement des protéines (Sunet *al.*, 2018).

II.3.1. Oxydation de l'ADN

Le stress oxydatif cause principalement des dommages passifs à l'ADN. Les dommages à l'ADN actifs sont médiés par les endonucléases de l'ADN, qui contiennent principalement une désoxynucléase activée par la caspase, un facteur induisant l'apoptose et une endonucléase G, qui entraînent la fragmentation de l'ADN double brin. Les

dommages passifs à l'ADN sont causés par la réaction directe de l'ADN avec les ROS ou indirectement avec les produits générés par la réaction des ROS et des lipides ou protéines, entraînant des modifications des bases nucléotidiques, telles que des sites apuriniques / apyrimidiniques (Li *et al.*, 2011) (figure 03).

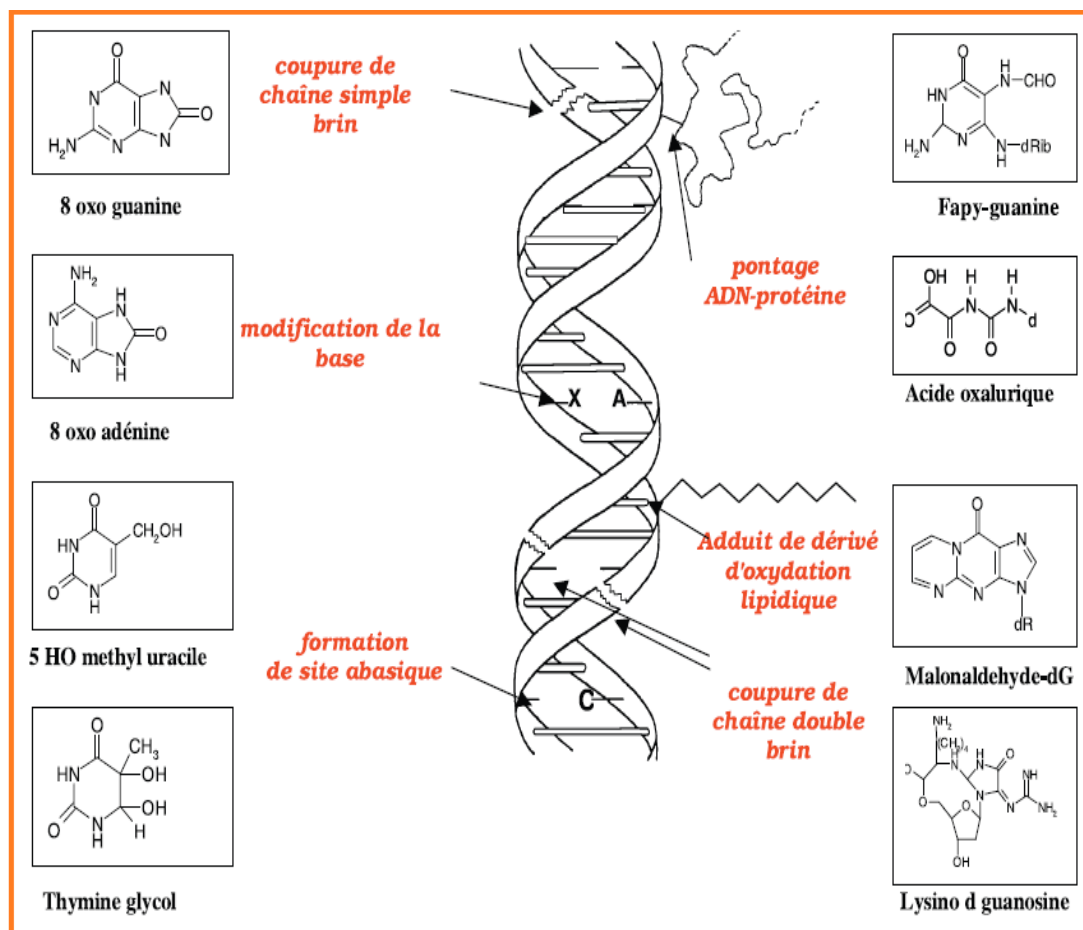


Figure 03 .Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (Favier, 2003)

II.3.2. Oxydation des lipides

La peroxydation lipidique est considérée comme une cible utile pour l'évaluation du stress oxydatif car le radical hydroxyle est la forme la plus réactive des ROS et peut initier la peroxydation lipidique en attaquant les acides gras polyinsaturés (AGPI) acides gras à longue chaîne avec plus d'une double liaison (Francis, 2014 ; Michael *et al.*, 2018)

Les lipides sont oxydés par trois mécanismes distincts ; oxydation enzymatique, non enzymatique, oxydation par les radicaux libres, et oxydation non enzymatique, non radicalaire. Chaque mécanisme d'oxydation donne des produits spécifiques. La susceptibilité relative des lipides à l'oxydation dépend du milieu réactionnel ainsi que de

leur structure inhérente. Les hydroperoxydes lipidiques sont les principaux produits primaires, mais ils constituent des substrats pour diverses enzymes et subissent également diverses réactions secondaires (Niki *et al.*, 2005). Les hydroperoxydes phospholipidiques, par exemple, sont réduits en hydroxydes correspondants par des sélénoprotéines *in vivo*. Les hydroperoxydes ensuite subissent une fragmentation afin de produire une large gamme de produits intermédiaires réactifs, tels que la Prostaglandine F2a isomère F₂-isoprostanes (F₂-IsoPs) et malondialdéhyde (MDA) (Niki *et al.*, 2005 ; Catalá, 2009).

L'attaque des lipides peut concerner les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides membranaires. Les conséquences seront différentes :

- l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL (lipoprotéines de densité légère) oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires.
- l'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (Favier, 2003) (figure 04).

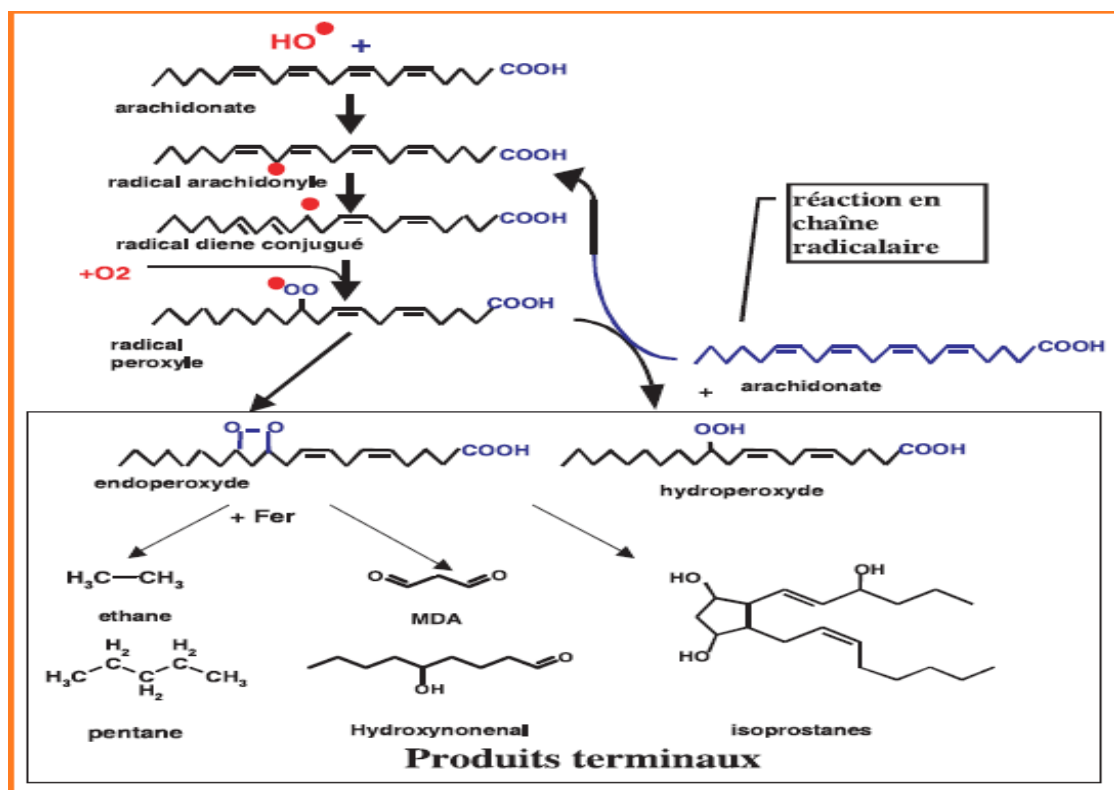


Figure 04 .Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (Favier, 2003)

La MDA est l'un des biomarqueurs les plus couramment utilisés pour la peroxydation des lipides. Ses niveaux de plasma en corrélation étroite avec les taux plasmatiques de 8-isoPGF2 (Tsikas *et al.*, 2012). Cet aldéhyde est un produit final des enzymes et peroxydation catalysée par les radicaux libres d'une variété d'AGPI. La quantité de MDA est beaucoup plus que celui de 8-isoPGF2 à un niveau de rapport moléculaire, soit 500: 1 (Tsikas, 2017 ; Tsikasetal, 2012)

Étant donné que le MDA présente une réactivité et une capacité élevées à former des adduits avec de nombreuses molécules biologiques, la majorité de la MDA est liée à des fragments d'ADN et d'acides aminés dans les protéines. MDA en circulation existe principalement sous deux formes, libre (non liée) et liée de manière covalente à diverses biomolécules, telles que des protéines acides nucléiques, lipoprotéines et acides aminés solubles. Il est important de souligner si le libre accès. Les niveaux de MDA (non liés) ou totaux (liés et non liés) sont pris en compte. Depuis un pourcentage élevé de. Le MDA circulant est lié aux protéines plasmatiques (Tsikas, 2017), et seules de petites quantités de MDA libre sont présentes dans échantillons biologiques, le niveau total de MDA est plus facile à mesurer. Hydrolyse de la MDA liée aux protéines la fraction peut être obtenue soit par traitement de l'échantillon avec une solution alcaline ou avec une solution acide (Pilz *et al.*, 2000).

II.3.3. Oxydation des protéines

L'oxydation des protéines est définie comme la modification covalente d'une protéine induite soit par les réactions directes avec des espèces réactives de l'oxygène (ROS), soit par des réactions indirectes avec des sous-produits secondaires du stress oxydatif. Les ROS peuvent provoquer une oxydation à la fois des chaînes latérales d'acides aminés et des squelettes protéiques, entraînant une fragmentation des protéines ou une protéine - protéine. Liens transversaux. Bien que tous les acides aminés puissent être modifiés par les ROS, la cystéine et la méthionine qui sont les plus susceptibles aux changements oxydatifs en raison de la grande réactivité du groupe soufre dans ces acides aminés. Les modifications oxydatives des protéines peuvent modifier leurs propriétés physiques et chimiques, notamment la conformation, la structure, la solubilité, la sensibilité à la protéolyse et les activités enzymatiques (Zhang *et al.*, 2013).

II.4. Système de défense antioxydant

Un antioxydant est simplement défini comme une molécule capable de prévenir ou de ralentir l'oxydation d'autres molécules. Il le fait même à une concentration relativement faible, jouant ainsi divers rôles physiologiques dans le corps et la santé (**Mandal et al., 2009**). Une molécule antioxydante est suffisamment stable pour donner un électron à un radical libre déchaîné et pour le neutraliser, empêchant ainsi les dommages oxydatifs (**Lobo et al., 2010**).

Les systèmes de défense antioxydants se composent d'enzymes (ex. la glutathion peroxydase), de vitamines (A, C, E), d'oligoéléments (ex. le sélénium), de protéines (ex. la ferritine). En situation physiologique, ces systèmes antioxydants ont la capacité de réguler parfaitement la production des ERO (**Pincemail, 2002**).

Le système immunitaire est également extrêmement vulnérable à l'équilibre oxydant et antioxydant, car une production incontrôlée de radicaux libres peut altérer sa fonction et son mécanisme de défense (**Aslani et al., 2016**).

Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie (ex. le tabagisme), ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit. Déterminer le statut de stress oxydant d'un individu devient donc un sujet de priorité en termes de prévention de maladies (**Pincemail et al., 2002**).

La nature des antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'ils se trouvent dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire (**Bonnefont-Rousselot et al., 2003**). Il existe 3 types d'antioxydants :

- ▶ Les enzymes qui existent à l'état endogène : les superoxydes dismutases (SOD), la catalase (CAT), le glutathion peroxydase (GPx).
- ▶ Les molécules antioxydantes ou «piégeurs» de radicaux libres comme la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes, l'acide urique, le glutathion et les groupements thiols.
- ▶ Les protéines chélatrices du fer, comme la transferrine et l'hémoglobine, ou du cuivre comme la céruloplasmine et l'albumine.

II.4.1. Systèmes de défense enzymatique

II.4.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

Est une enzyme essentielle de défense contre les ERO. Elle est capable de transformer par dismutation de l'anion superoxyde, première espèce toxique en une molécule d'oxygène et de peroxyde d'hydrogène qui est beaucoup moins réactif. Le peroxyde d'hydrogène formé est pris en charge par les catalases et les glutathion peroxydases à sélénium (**Zelko et al., 2002**). Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au centre de l'enzyme qui permet de distinguer les superoxydes dismutases à manganèse (MnSOD) protégeant la mitochondrie, de celles à cuivre-zinc protégeant le cytosol (cCu-ZnSOD), la face externe de la membrane des cellules épithéliales (ecCu-ZnSOD) ou le plasma sanguin (pCu-ZnSOD).

II.4.1.2. Catalases

Les catalases sont des hémoprotéines tétramériques qui, avec un atome de fer par sous-unité, ont une masse d'environ 240 KDa. Elles catalysent la réduction du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène moléculaire. Les catalases sont des enzymes peroxysomales dont le rôle est de prévenir les peroxydations des molécules biologiques induites par l'eau oxygénée (H_2O_2). Les catalases sont présentes dans tout le règne animal et se retrouvent aussi chez les végétaux. Elles sont sensibles à certains contaminants inducteurs de stress oxydatif au niveau des membranes cellulaires, comme les HAP, ou certains pesticides (**Livingstone, 1993**) et les métaux (**Labrot et al., 1996a**). Cependant, les résultats sont parfois contradictoires *in vivo*, certains auteurs montrent une induction de l'activité (**Di Giulio et al., 1989 ; 1993**), d'autres une inhibition (**Labrot et al., 1996**). Cette enzyme se localise essentiellement dans les peroxysomes en forte concentration dans le foie et les hématies (**Putnam et al., 2000**).

II.4.1.3. Glutathions peroxydases

constituent l'un des plus importants systèmes enzymatiques de protection car elles sont capables de détoxifier le peroxyde d'hydrogène, mais aussi d'autres hydroperoxydes résultant de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras polyinsaturés, en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur comme le glutathion, le cytochrome c (cytochrome c peroxydases) et le NADH (NADH peroxydases). Pratiquement toutes les glutathions peroxydases contiennent, dans leurs sous-unités, un à

quatre atomes de sélénium et sont retrouvées dans le plasma, dans le cytosol et dans la membrane cellulaire (Ursini, 1995).

II.5. Systèmes de défense non enzymatiques

D'autres composés, tels que les vitamines E (tocophérol), C (acide ascorbique) et les caroténoïdes, apportés par les aliments, agissent en piégeant les radicaux et en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules ou ions stables (Krinsky, 1989; Halliwell, 1994).

II.5.1. Glutathion réduit (GSH)

Le GSH est produit de manière intracellulaire à partir de trois acides aminés - glutamate, cystéine et glycine (Koji et Toshio, 2013), le glutathion tripeptide est le composé thiol présent à la concentration la plus élevée dans les cellules de tous les organes. Le glutathion a de nombreuses fonctions physiologiques, notamment son implication dans la défense contre les espèces réactives de l'oxygène (Dringen, 2000).

Les études menées que le GSH est impliqué dans les processus physiologiques cellulaires essentiels : défense antioxydante, désintoxication des xénobiotiques, homéostasie rédox intracellulaire, support / stockage de la cystéine, signalisation cellulaire, fonction des protéines, expression génique et différenciation / prolifération des cellules. Ainsi, un dysfonctionnement du métabolisme du GSH peut provoquer des événements cellulaires mortels (Koji et Toshio, 2013).

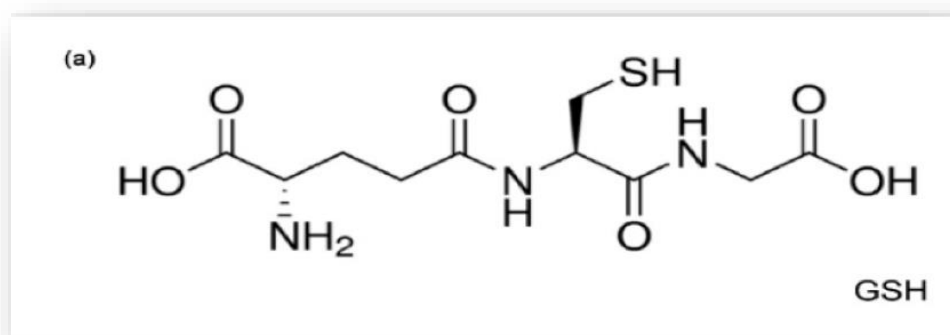


Figure 05. Structures chimiques du glutathion réduit (GSH) (Chung *et al.*, 2016).

Deuxième Partie :

Partie pratique

Chapitre I

Matériels et Méthodes

I.1. Matériels

I.1.1. Animaux de laboratoire et les conditions d'élevage

Les animaux utilisés dans notre étude réalisées in vivo sont des rattes femelles *Wistar Albinos* au nombre de 10 rattes, âgés de 6 à 8 semaines. Elles proviennent de l'institut Pasteur d'Alger, et élevées à l'animalerie de la faculté des sciences de la nature et de vie de l'université Echahid Hamma Lakhdar d'El-oued.

Les rattes ont été soumises à une période d'adaptation de 2 mois, aux conditions de l'animalerie de la faculté à une température ambiante. Ils ont été maintenus dans des cages en polyéthylène qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois (**Annexe I**). Les cages sont nettoyées et la litière est changée une fois par deux jours jusqu'à la fin de l'expérimentation. Ils ont été nourris avec un régime standard de son, l'eau étant quotidiennement renouvelée à l'aide d'un biberon spéciale.

I.2. Méthodes

I.2.1. Traitement des rattes

Les rattes sont répartissent en deux (02) groupes :

- ▶ Groupe témoin : 04 rattes.
- ▶ Groupe traité : 06 rattes.

Pour les 06 rattes traitées : on applique une exposition cutané par l'essence après l'élimination de la poile dans une partie de la ratte pendant un mois de 1 à 2 fois par semaine.

I.2.2. Prélèvement sanguin

La ponction cardiaque permet de recueillir une quantité assez importante de sang. Elle doit être effectuée de préférence sous anesthésie générale. Elle est dangereuse et doit être évitée dans l'exercice libéral car elle peut entraîner la mort de l'animal (**Boussarie, 1999**)

Après une nuit de jeûne, Les rattes sont anesthésiées par chloroforme (94%), fixé sur le paillasse et à l'aide d'une seringue on prélève le sang, puis a été versé dans des tubes EDTA pour FNS. (**Annexe II**)

I.2.3. Sacrifices des rattes

Après le prélèvement sanguin les rattes sont sacrifiées, on prend le foie, le rein et une partie de la peau de ratte traite, les organes sont soigneusement prélevés, rincés dans l'eau physiologique et en suite séchés. Le foie et le rein sont utilisés pour la préparation de l'homogénat qui utilisés pour le dosage des paramètres du stress oxydatif (protéines,

malondialdéhyde (MDA), glutathion (GSH), et la peau est conserve dans formolaldéhyde (10%) pour faire l'analyse histologique.

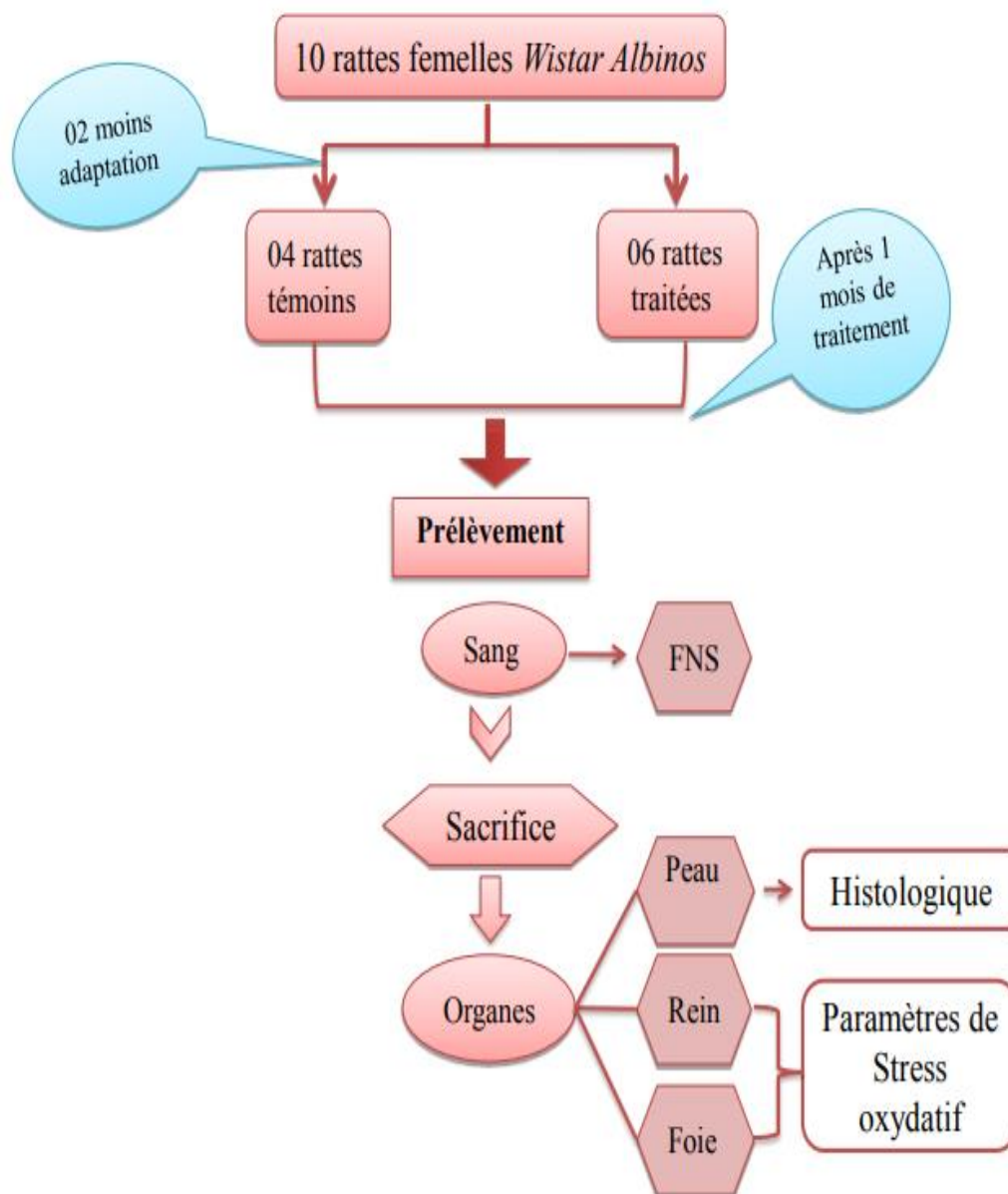


Figure 06 .Schéma récapitulatif d'étapes de traitement et le prélèvement des échantillons étudiés.

I.2.4. Paramètre hématologique (FNS)

La formule de numération sanguine (FNS) a été réalisée par l'analyseur automatique (F.N.S COMPLETE Mode : ST-Tous). Le dosage a été réalisé au niveau du laboratoire de l'hôpital du 19 mars El-Oued.

I.2.5. Paramètres du stress oxydatif

I.2.5.1. Dosage du Glutathion réduit (GSH)

Le dosage du glutathion a été réalisé selon la méthode de **Weckberker et Cory (1988)**. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela une déprotéinisation de l'homogénat est indispensable afin de garder uniquement les groupements thiol spécifiques du glutathion. 200 mg de tissu (foie, rein) ont été mis en présence de 8 ml d'une solution d'Ethylène Diamine Tétra Acétique (EDTA) à 0,02 M, puis ont été broyés.

❖ Mode opératoire

- ✓ Prélever 800 µl de l'homogénat.
- ✓ On ajoute 200µl d'une solution d'acide sulfosalicylique (0,25%).
- ✓ Agiter le mélange et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- ✓ Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
- ✓ Prélever 500 µl du surnageant.
- ✓ Ajouter 1 ml du tampon Tris-EDTA (EDTA (0.02M)), tris-EDTA à pH 9,6)
- ✓ Mélanger et ajouter 25 µl de DTNB à 0,01 M (dissous dans le méthanol absolu).
- ✓ Laisser pendant 5 min à une température ambiante pour la stabilisation de la couleur qui se développe instantanément.
- ✓ Lecture des absorbances à longueur d'onde 412 nm contre le blanc. (500µl d'eau distillé + 1 ml de tampon tris-EDTA + 25µl DTNB).

Calcul : Le taux du glutathion réduit est obtenu par la formule suivante :

$$\text{GSH } (\mu\text{M})/(\text{mg de proteine}) = \frac{Do \times 1 \times 1,525}{13,1 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg de proteine}}$$

DO : Densité optique à 412 nm.

1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0,8 ml homogénat + 0,2 ml SSA).

1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH (0,5 ml surnageant + 1 ml Tris-EDTA + 0,025 ml DTNB).

13,1 : Coefficient d'extinction du groupement (–SH) à 412 nm.

0.5 : Volume du surnageant utilisé en ml.

0.8 : Volume du l'homogénat utilisé en ml.

On note que la concentration du GSH est mesurée par rapport à la quantité des protéines en mg. C'est pour cela ce dosage doit être accompagné par le dosage des protéines.

I.2.5.2. Dosage du Malondialdéhyde (MDA)

Les composés carbonylés à l'instar du malondialdéhyde réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour donner des chromophores de couleur rose absorbant à 532nm (Yagi, 1976).

Pipeter dans les tubes à essai en verre et à vis, 200µl d'échantillon, 800 µl de réactif TBA et fermer hermétiquement. Chauffer le mélange au bain Marie à 100°C pendant 15 minutes. Puis refroidir dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction. Centrifuger à 3000 tours/minutes pendant 5 minutes et lire l'absorbance du surnageant à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

La concentration de TBARS (Thiobarbituric reactive species) a été déterminée en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du MDA ($\epsilon = 1,53 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Les résultats ont été exprimés en µmol/l de protéine.

$$MDA (\mu\text{mol}/\text{mg de protéine}) = \frac{(Do \text{ échantillon} / 1,53 \times 10^5)}{\text{mg de protéine}}$$

Remarque

Pour la préparation de la solution TBA : peser 375 mg de TBA, 20g de TCA, 0.01g de BHT, puis ajouter 25 ml de HCL 1 N et 50 ml d'eau distillée. Mélanger tous dans un bécher. La solution obtenue a été chauffée à 40°C dans un bain Marie jusqu'à dissolution complète du TBA, puis transférée dans une fiole de 100ml et le volume complété à l'eau distillé jusqu'au de jauge.

I.2.6. Dosages des protéines

La quantité de protéines est déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)** qui utilise le bleu Brillant de Coomassie (BBC) (G 250) comme réactif. Les groupements amines (-NH₂) des protéines réagissent avec un réactif à base de l'acide ortho phosphorique, de l'éthanol et de bleu Brillant de Coomassie pour former un complexe de couleur bleue. L'apparition de cette couleur reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité établit la concentration des protéines dans l'échantillon. 0,1 ml de l'homogénat, avec 4 ml de Bleu Brillant de Coomassie (G250, Merk) comme réactif (50 mg de Bleu Brillant de Coomassie, 25 ml d'éthanol (95%), 50 ml d'acide orthophosphorique (85%) et compléter à 500 ml avec l'eau distillée).

Les absorbances ont été lues à une longueur d'onde de 595 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre, et la gamme d'étalonnage réalisée à partir d'une solution d'albumine de bœuf (Sigma, France) à 1mg/ml (**Tableau 05**).

Tableau 05 : Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution d'albumine (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

I.3. Analyse histologique

Les coupes histologiques ont été réalisées au laboratoire d'anatomie pathologie au niveau établissement public Hospitalier Touggourt, comporte les étapes suivantes :

I.3.1. Fixation :

Elle a pour but d'immobiliser les structures cellulaires tout en conservant leurs morphologies. Le temps de la fixation est essentiel pour la réussite de la technique histologique. Elle doit être réalisée rapidement après la décapitation des rats et prélèvement des organes. Des fragments de foie et de rein (de surface 1 à 2 cm² et d'épaisseur 2 mm) ont été mis dans le fixateur (Bouin alcoolique), il permet de durcir l'échantillon sans l'abîmer. Après 48 heures de fixation les pièces d'organes sont retirées du Bouin puis rincées à l'eau

distillée. Des coupes transversales faites par l'anatomopathologiste. Les échantillons sont placés dans des cassettes spéciales à parois trouées afin de permettre le passage des liquides au cours des manipulations qui suivent :

I.3.2. Déshydratation :

Comme la paraffine n'est pas miscible à l'eau, les échantillons doivent être alors complètement déshydratés avant l'inclusion dans la paraffine. Cette dernière n'est pas non plus soluble dans l'alcool utilisé pour la déshydratation, on assiste donc à une substitution par le xylène. La déshydratation se fait grâce à un automate qui fait immerger les échantillons dans des bains d'éthanol à concentration croissante (70, 95 et 100 %), puis dans des bains de xylène qui constitue un agent éclaircissant donnant au tissu une certaine transparence. Ensuite, dans l'étuve le xylène s'évapore des pièces anatomiques. Cette étape est réalisée par un appareil appelé le circulateur.

I.3.3. Inclusion et réalisation des blocs :

Elle ne peut être satisfaisante que si l'échantillon est complètement déshydraté et ne contient plus de solvant intermédiaire (alcool). Les pièces sont plongées (2 heures) dans des bains de paraffine liquide fondue à 60° C. Les échantillons étant imbibés de paraffine sont placés dans des moules appelés les barres de Leuckart, puis sont remplis de paraffine. Cette opération fait appel à des appareils « dits à inclusion » refermant un réservoir de paraffine maintenue à l'état liquide par un système de chauffage, un petit robinet et une plaque métallique réfrigérée pour aboutir à la solidification rapide (10 à 15 min) du bloc de paraffine contenant le tissu.

I.3.4. Confection des coupes :

Les blocs de paraffine sont préalablement taillés avant de subir des coupes au microtome de 4 à 5 µm. Les rubans de paraffine obtenus sont étalés sur des lames porte-objet, puis déplissés et fixés par une eau gélatineuse chauffée à 40 °C. Les lames sont marquées au nom des différents lots à l'aide d'un crayon d'argent, ensuite séchées dans une étuve à 100 °C pendant 1 heure.

I.3.5. Coloration et montage :

Il existe plusieurs méthodes de coloration qui varient en fonction des tissus. La méthode de l'Hématéine-Eosine (HE) est la plus utilisée. La coloration suit les étapes suivantes:

- ✓ Déposer les coupes dans un bain de xylène pendant 10 minutes afin de déparaffiner les échantillons et faire pénétrer les colorants.
- ✓ La réhydratation des coupes se fait par passage dans un bain d'éthanol pendant 10 minutes puis hydrater les lames par l'eau du robinet.
- ✓ Immerger les coupes dans un bain d'Hématéine (10 minutes) qui colore en bleu violacé les structures basophiles (noyaux cellulaires). Rincer à l'eau courante.
- ✓ Le deuxième colorant utilisé est l'éosine qui colore en rose les structures acidophiles (cytoplasmes cellulaires). Rincer à l'eau courante.

Le montage consiste à fixer une lamelle en verre sur les coupes histologiques après coloration. Cette étape permet la:

- ✓ protection mécanique des coupes.
- ✓ protection chimique des colorants.

Sécher les lames puis observer au microscope optique équipé d'un appareil photographique.

I.4. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne et l'écart type (moyen $\pm$ s), les moyennes et les écart-types sont présentés dans des histogrammes par l'utilisation de l'office Excel 2007. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel MINITAB 18 Fr. La signification de différence entre le groupement témoin et traité est vérifiée par l'utilisation de test T à 2 échantillons.

- ▶ ^{NS}: $p > 0,05$;
- ▶ *: $p \leq 0,05$;
- ▶ **: $p \leq 0,01$;
- ▶ ***: $p \leq 0,001$.

Chapitre II

Résultats et discussion

II. Résultats et discussion

II. 1. Paramètres hématologiques

Les résultats obtenus après un mois de traitement par l'essence nous permettent de remarquer un taux d'hémoglobine normal (12,44 g/dl).

L'analyse statistique à l'aide de teste T indique qu'il existe une augmentation significative ($p < 0,05$) de nombre de globules rouges chez les rattes traitées par rapport des rattes témoins, (**figure07**).

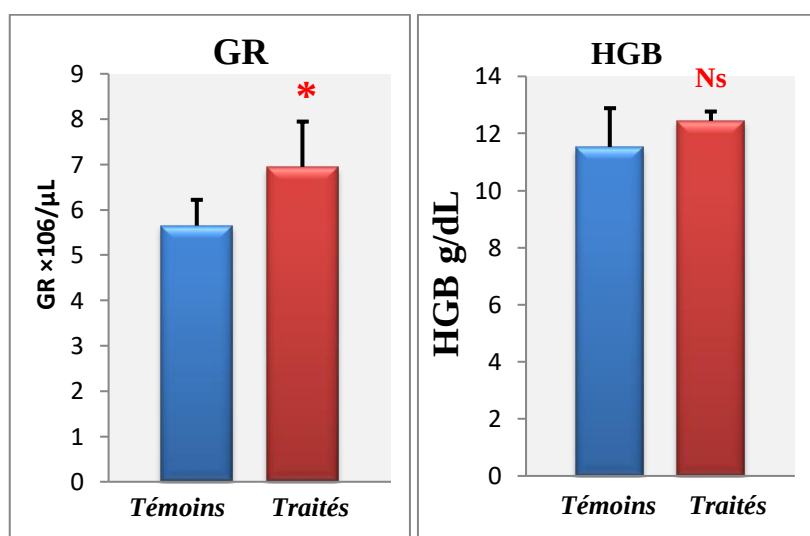


Figure 07. Nombre de GR, et le taux HB chez les rattes témoins et traitées, ^{Ns} : $p \geq 0,05$;
* : $p \leq 0,05$.

L'essence est un produit classé comme dangereux conformément au Règlement (CE) N°1272/2008, et son étiquetage renferme la phrase de risque **H315** cette phrase montre que ce produit est peut provoquer une irritation cutanée. La peau est constituée de trois couches superposées ; l'épiderme, le derme et l'hypoderme, l'épiderme en contact direct avec l'extérieur, il associe souplesse, imperméabilité et résistance, pour éviter le passage direct de l'extérieur à l'intérieur du corps, l'épiderme est dépourvu de vaisseaux sanguins.

Selon **INRS (2008)**, un produit avec un pictogramme « point d'exclamation » SGH07 désigne comme un poison peut provoquer des irritations au niveau des yeux, gorge, nez, et la peau, et peut provoquer aussi des allergies cutanées. Dans ce cas l'essence provoque des lésions cutanées en facilitant son passage au derme, et la pénétration des micro-organismes à l'intérieur de l'organisme des rattes traitées, en conséquence provoque une réaction inflammatoire.

Il y'a une réaction dite, une inflammation sans micro-organismes d'origine d'un stress cellulaire causé par des agents physiques ou chimiques, les cellules lésées ou détruites libèrent le contenu de leur cytoplasme dans le milieu extracellulaire. Cette situation est pro-inflammatoire car il a libération de protons, d'ions K^+ et d'ATP et production de prostaglandines qui stimulent les terminaisons nerveuse des tissus. En retour les terminaisons nerveuses libèrent des médiateurs comme la substance P ou le CGRP qui activent les mastocytes et les cellules endothéliales déclenchant le processus inflammatoire (**Espinosa et Chillet, 2010**).

Pendant le traitement on a pu observer des lésions et des rougeurs au niveau de la peau chez les rattes traitées, donc l'organisme besoin de réparation (cicatrisation) de la peau en consommant beaucoup d'énergie (**Annexe V**). La source de cette dernière est les nutriments et l'oxygène qui sont les éléments indispensables pour la vie des cellules, pour ce là, l'organisme est besoin d'augmenter le débit sanguin et l'augmentation des globules rouges de l'hémoglobine responsables de la diffusion et l'apport d'oxygène, qui confirme l'augmentation des globules rouges chez les rattes traitées.

Nos résultats sont proches à ceux obtenus par **Raza et al en 1995**. La concentration d'hémoglobine n'est pas touchée par le traitement chez les souris males de *swiss webster* traités par l'essence dans l'expérimentation par voie cutanée.

Concernant les résultats obtenus par l'évaluation des nombres des globules blancs, on a enregistré des valeurs élevées d'une manière hautement significative ($p < 0,01$) chez les rattes traitées par rapport aux témoins. Le nombre des lymphocytes et les monocytes chez les traitées est plus élevé que les témoins, l'analyse statistique révèle une augmentation significative des lymphocytes et des monocytes chez les rattes traitées ($p < 0,05$) (**figure 08**).

Selon **Jia et al en 2002**, l'essence est un irritant pour la peau sur les humains et les animaux provoquant des craquelures, des irritations, et dermatite. La dermatite de contact irritante (DAI) est une maladie non spécifique, dermatite inflammatoire provoquée par l'activation du système immunitaire inné par les propriétés pro-inflammatoires des produits chimiques. La dermatite de contact allergique (ACD) correspond à une réponse d'hypersensibilité retardée associé à une inflammation de la peau par la médiation spécifique du lymphocyte T (**Nosbaum et al., 2009**).

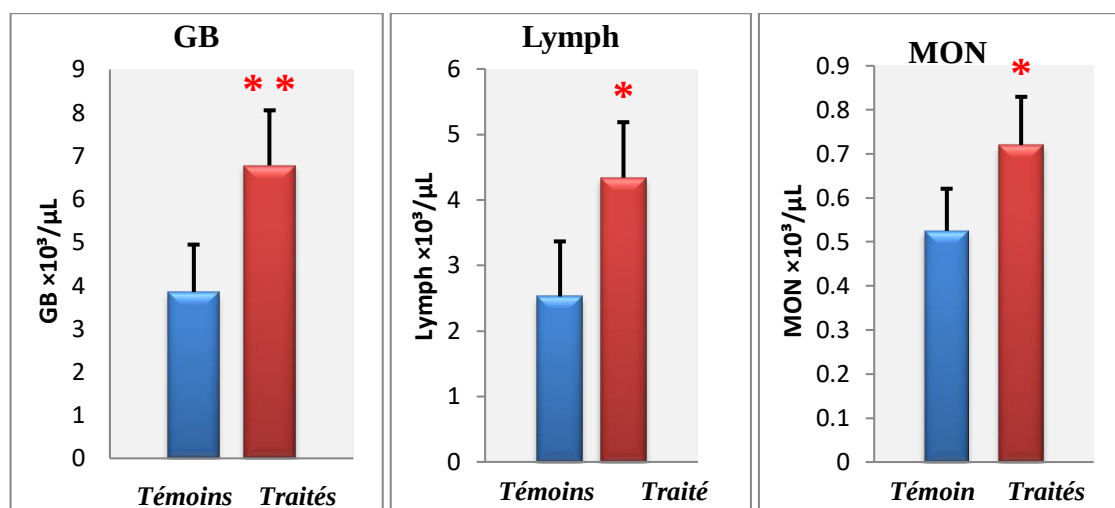


Figure 08. Nombre des cellules immunitaires (GB, lymphocytes, monocytes) chez les rattes témoin et traitées ; * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$.

Dans une réaction inflammatoire les cellules certaines cellules immunitaires comme les macrophages, mastocytes, et cellules endothéliales sécrètent l'IL-1, 6, TNF- α , ces derniers stimulent l'augmentation de la production de leucocytes dans la moelle osseuse (**Espinosa et Chillet, 2010**). De plus, l'augmentation des nombres de globules blancs été observé aussi chez les travailleurs exposer à l'essence (**Abdel Aziz et al, 2006**).

D'autre part, les HAPs (contenants dans l'essence) sont plutôt considérés comme des composés immunosuppresseurs. Ces effets ont surtout été documentés par des études expérimentales menées in vivo chez l'animal et in vitro chez l'animal et l'homme et ont beaucoup concerné l'immunité humorale après une exposition chronique (**Sparfel, 2016**).

Concernant les indices érythrocytaires affichés dans le rapport d'analyse de l'FNS montrent une diminution très hautement significative ($p \leq 0.001$) de TCMH (teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine) dans les rattes traites en comparaison avec les rattes témoins. Nous calculons aussi une diminution hautement significative ($p \leq 0.01$) de CCMH (concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine) et une diminution non significative ($p > 0.05$) du volume globulaire moyenne (VGM).

Plusieurs études épidémiologiques (**Ajugwo et al., 2014 ; Sahb, 2011 ; Tunsaringkarn et al., 2013 ; Yoon et al., 2001 ; Qu et al., 2002 ; Okoro et al., 2006 ; Udonwa et al., 2009**) ont établi une association étroite entre l'exposition à des composés de l'essence et l'hématotoxicité pour l'homme. Bien que les effets de ses effets sur des cellules sanguines spécifiques aient été quelque peu incohérents, l'hématotoxicité de l'essence semble être une caractéristique constante et a été observée même à des niveaux précédemment considérés

comme inoffensifs pour l'homme (Glass *et al.*, 2003 ; Lan *et al.*, 2004 ; Kirkeleit *et al.*, 2008).

Dans notre expérimentation le concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) est diminué chez les rattes traitées par rapport au témoins. Solen Barro *et al* (2013) le CCMH indique le taux moyen d'hémoglobine dans le volume occupé par les hématies dans le sang (concentration moyen d'hémoglobine dans un globule rouge) obtenu en divisant le taux d'hémoglobine par l'hématocrite. Une CCMH diminuée est observée quand l'hémoglobine est anormalement diluée dans les hématies.

Un résultat similaire à été observé chez des travailleurs exposés à l'essence par Okoro *et al* (2006) ; et Ajugwo *et al* en 2014.

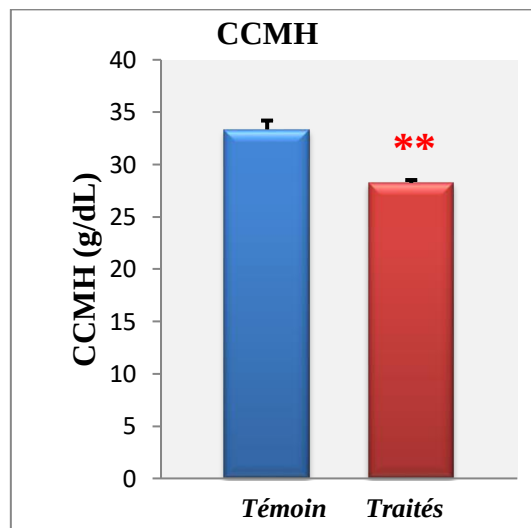


Figure 09. Taux de CCMH chez les rattes témoins et traitées ; ** : $p \leq 0,01$.

Le TCMH est diminués dans des nombreux types d'anémie dont les anémies microcytaire (carence en fer, etc.). Le TCMH est diminué lorsque les hématies sont plus petites que la normale (microcytaire) (Barro *et al.*, 2013).

Nous observons une TCMH faible chez les rattes traitées ce qui signifie que la taille des érythrocytes est devenue petite en comparaison avec à celui des témoins. De plus, les résultats obtenu présentés un VGM peu bas chez le group traitées, révéle comme non significatif par l'analyse statistique. Des résultats proches à ceux obtenus par Okoro *et al* (2006) et Ajugwo *et al* en 2014.

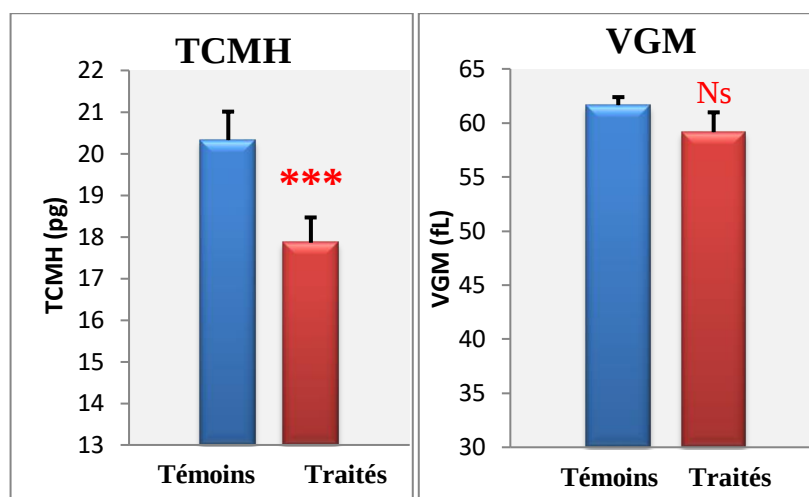


Figure 10. Taux de TCMH et le VGM chez les rattes témoins et traités.

Ns : $p > 0,05$; *** : $p \leq 0,001$

Selon les mêmes études épidémiologiques, les mécanismes sous-jacents à l'hématotoxicité de l'essence peuvent en partie provenir de l'effet myélosuppresseur des divers constituants de l'essence. Le benzène, par exemple, a été désigné comme constituant de l'essence la plus hématotoxique (BTEX) chez l'homme. Plusieurs mécanismes sous-jacents à l'hématotoxicité du benzène ont été postulés par divers chercheurs, par exemple : l'exposition par inhalation d'essence peut entraîner l'activation métabolique de certains de ses composants (comme le benzène) en métabolites actifs (hydroquinone et 1,2,4-benzotriol) par un mécanisme indépendant du cytochrome P450 2E1 (CYP2E1). Ces métabolites sont connus pour induire un stress oxydatif déclenchant la myélotoxicité et l'hématotoxicité de nombreuses manières, notamment l'appauvrissement des taux cellulaires de glutathion (GSH), l'implication du cycle redox, et la génération d'espèces réactives de l'oxygène pouvant réagir avec les macromolécules, telles que membranes, enzymes et acide désoxyribonucléique (ADN). De plus, le stress oxydatif est associé à une vulnérabilité accrue des globules rouges à la destruction, et donc à l'anémie (Kirkeleit *et al.*, 2008).

II.2. Paramètres du stress oxydatif

Le taux de glutathion réduit (GSH) et le malondialdéhyde (MDA), ont été mesurés au niveau du foie et des reins du groupe traité et témoins, les résultats obtenus sont exprimés par rapport à la quantification des protéines qu'été calculée à partir de l'équation du droit de régression linéaire de la gamme d'étalonnage des protéines (Annexe III).

II.2.1. Dosage du taux de GSH

La détermination du taux de glutathion réduit nous permet d'enregistrer uu taux de GSH au niveau du foie des rattes traitées inférieur à celui des témoins, avec une diminution significative ($p \leq 0,05$). Le taux de GSH diminué d'une façon non significatif dans le rein (**Figure 09**)

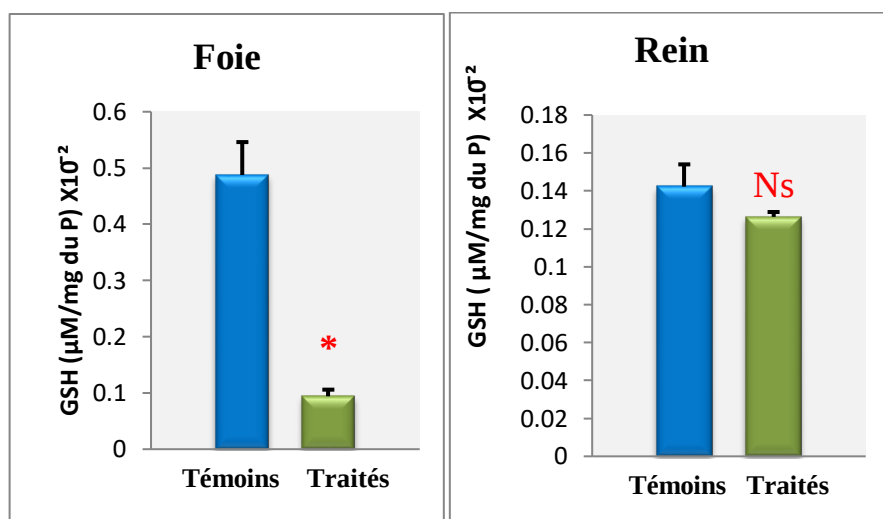


Figure 11. Taux de glutathion réduit GSH dans le foie et les reins des rattes témoins et traités ; * $p < 0,05$; Ns $p \geq 0,05$.

Nos résultats révèlent que l'essence induite une diminution significative de taux de GSH dans le foie avec une diminution non significatif ($p > 0,05$) dans les reins.

Raza et al (1995) appliquent une exposition cutanée par trois doses d'essence (12ml/kg, 30ml/kg, 60ml/kg) sur les souris de *swiss webster* (30-35g) pendant 7 jours, leurs résultats obtenus indiquent que l'essence provoque la mortalité de 50% d'individus traités par 30ml/kg après 5 jours, et après 3 jours pour la dose de 60ml/kg. Les animaux survivent sont sacrifiés dans le 8^{ème} jour pour évaluer les paramètres de stress oxydatif dans la peau, le foie, et le cerveau. Leurs résultats montrent une diminution significative du taux de GSH dans les déférents organes. **Verma et al (2008)** ont été détecté une diminution significatif ($p \leq 0,05$) dans le taux de glutathion dans le foie des souris mâles de *Swiss albino* après une exposition sous cutané à l'essence.

D'après **CCHST (2019)** l'essence est un mélange cancérigène pour les reins suite d'une exposition chronique. Et est un mélange complexe qui contient jusqu'à 250 hydrocarbures distincts, dont plusieurs dont la toxicité est bien établie (p. ex. le benzène, le toluène, les xylènes et le n-hexane).

Le métabolisme de l'essence sous forme de mélange n'a pas été établi parce que la problématique d'exposition aux mélanges des substances et des risques sanitaires associés est une question centrale en santé publique, comme l'essence (INRS, 2006). Par conséquent, l'effet toxique mené par l'exposition à l'essence est bien établi, par contre, les mécanismes de détoxification et les processus de métabolisme, de conjugaison et élimination des composants de l'essence en mélange ne devraient pas se produire encore.

II.2.2. Dosage du taux de MDA

Concernant les résultats obtenus par le dosage de MDA, les valeurs enregistrées révèlent une augmentation significative ($p < 0,05$) du taux de MDA dans les reins avec une augmentation non significative ($p > 0,05$) dans le foie des rattees traitées. (figure10).

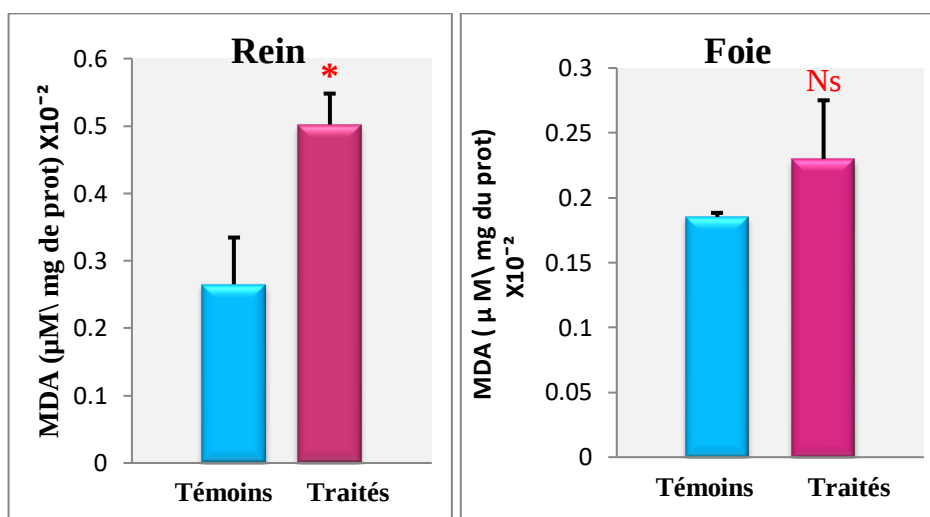


Figure 12. Taux de Malondialdéhyde MDA les reins et le foie des rattees traitées et témoins, ^{NS} $p > 0,05$; * $p < 0,05$

L'augmentation de MDA liée à la peroxydation lipidique dans la peau et les cellules cibles dans l'organisme après la pénétration de l'essence. Selon Battacharya *et al* (1997), l'augmentation du taux de MDA est le résultat de l'augmentation des ERO qui attaquent les acides gras polyinsaturés de la membrane cellulaire et provoquent la peroxydation lipidique.

Les premières cibles des ERO sont les lipides, notamment ceux présents dans les membranes cellulaires. Les membranes riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'insaturation. Les radicaux hydroxyles, sont susceptibles d'interagir au niveau des doubles liaisons $\text{C}=\text{C}$ avec les chaînes d'acides gras polyinsaturés qui constituent le double feuillet phospholipidique des membranes, ils entraînent la peroxydation des acides gras polyinsaturés provoquant une désorganisation membranaire (perturbation des propriétés physicochimiques des membranes, des

communications intercellulaires et du fonctionnement des enzymes membranaires). Les hydroperoxydes lipidiques (ROOH) formés sont dégradés principalement en malonedialdéhyde (MDA) et 4-hydroxynonéal (4-HNE) qui réagissent de manière covalente avec les protéines et les inactivent), et le malonedialdéhyde (MDA) altère la fluidité et la fonction des membranes (**Gutteridge, 1995 ; Davies, 2005 ; Michel et al., 2008 ; Banday et al., 2008**). De plus, les aldéhydes mutagènes qui résultent de la peroxydation lipidique, peuvent se fixer sur une des bases de l'ADN, formant ainsi des adduits sur les bases (ex : MDA-guanine) (**Favier, 2003**).

Les hydroperoxydes formés par la peroxydation lipidique sont toxiques pour les cellules. Ils sont normalement réduits par une glutathion peroxydase (GPx) en acides gras monohydroxylés (**Guichardant et al., 2006**).

Ainsi l'augmentation au niveau des marqueurs du stress oxydatif (peroxydase lipide, malondialdéhyde (MDA) est observé chez des travailleurs exposés à l'essence (**Bayraktar et al., 2006 ; Odewabi et al., 2014**). **Achuba et Ekute (2017)** ont été détecté une augmentation significative ($p \leq 0,05$) dans le taux de peroxydation lipidique dans les reins de *African toad* exposés au polluant pétrolier.

De plus, des chercheurs tels qu'**Achuba et Osakwe (2003), Achuba (2010)** ont signalé que le métabolisme des hydrocarbures aliphatiques et aromatiques présents dans les produits pétroliers augmentait considérablement la génération d'espèces de radicaux libres dans divers tissus.

II.3. études histologique

L'étude des coupes histologiques prélevées des rattes traitées montrent la présence des altérations structurelles au niveau de la peau qui sont trouvés sous forme de mini inflammation ou bien une réaction pro-inflammatoire (**figur13A**) due à une irritation provoquée par l'essence.

Ce phénomène est couplé à une augmentation de la perméabilité vasculaire (ouverture réversible des jonctions serrées (région d'adhérence d'une cellule avec le voisinage) entre cellules endothéliales et contraction des cellules endothéliales). Elle implique la fuite de liquide proche du plasma (appelé exsudat) du sang vers les tissus (**Espinosa et Chillet, 2010**). Comme nous avons montrés dans la **figure 13C**.

De plus, l'afflux massif de sang dans les capillaires provoque une augmentation de la pression hydrostatique. Ces phénomènes aboutissent à une fuite d'eau et de molécules vers les

tissus : il y a formation d'un œdème (Espinosa et Chillet, 2010).Ce qui confirme nos résultats observés dans la **figure 13B**.

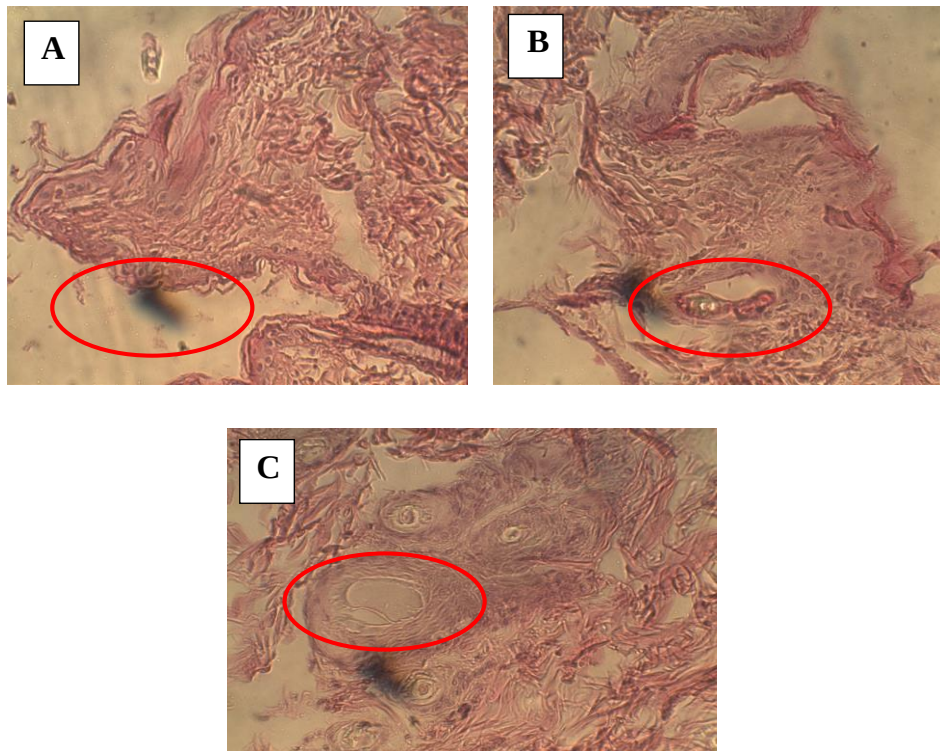


Figure 13. Observation microscopique d'une coupe histologique de peau des rattes traités, indique les changements morphométriques après traitement par l'essence, agrandissement x40 ; **A** : lésions, **B** : œdème, **C** : infiltra inflammatoire (Photo original, 2019).

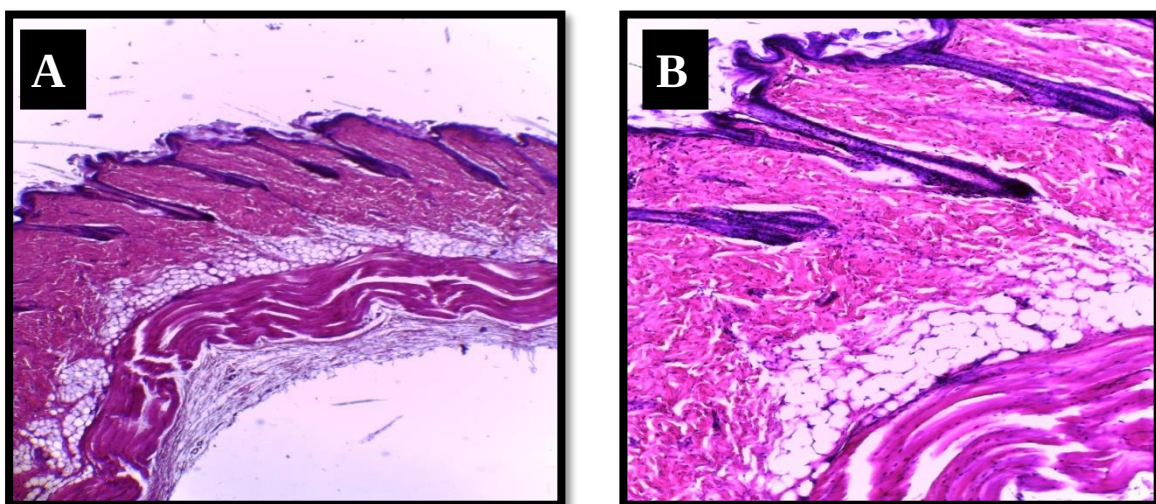


Figure 14. Observation microscopique d'une coupe histologique de peau des rattes témoins. (Photo original, 2019)

Conclusion générale

Conclusion générale

L'objectif principale de notre étude est d'évaluer le risque toxique mené par l'exposition cutanée à l'essence, a utilisé un modèle des rattes de *Wistar Albinos*.

La peau n'est pas totalement imperméable, en revanche plusieurs substances en particuliers les xénobiotiques peuvent être pénétrées à travers et provoquent des altérations de différentes couches dermiques, et ou atteints la circulation générale et affectés d'autre système. Ces xénobiotiques sont omniprésents dans notre environnement (dans l'aliment, l'eau, sol...), ou sont introduire à notre vie avec un mauvaises attitudes. L'utilisation de l'essence comme un expient pour noircie El-Henné constituée l'un de l'exemple le plus important dans notre région.

Après l'application d'essence sur la peau des rattes de *Wistar Albinos*, nous observons des changements dans l'hémogramme et des modifications dans les paramètres de stress oxydatif des rattes traités en comparaison avec les rattes témoins.

Concernant l'hémogramme, l'essence provoque des perturbations des paramètres hématologiques ; augmentation de nombre de GR et des cellules immunitaires (monocyte, lymphocytes) avec une diminution de taux des Indice érythrocytaire qui peuvent provoquer une anémie après une exposition à long terme.

Concernant le paramètre de stress oxydatif, l'antioxydant GSH diminué dans le foie et le rein, en revanche le taux de MDA un petit peut élever dans le rein.

Histologiquement la peau est endommagée après le contact avec l'essence.

Pour conclu, le contact de la peau avec l'essence provoque des irritations, rougeur, démangeaisons de la peau et peut entraîner une dermatose après une exposition à long terme. Plusieurs composants de l'essence capable de pénétrée à traves la peau et causé des intoxications pour divers systèmes. Il faut éviter l'utilisation de l'essence pour noircie El-Henné.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. **Abdel Aziz, I., Al Agha, S.Z., Shehwa, O.A. (2006).** Hematological and biochemical studies for gasoline toxicity among gasoline workers in Gaza strip, 10(S.E), 41-58.
2. **Achuba, F. I. and Osakwe, S. A. (2003).** Petroluem induced free radical toxicity in African catfish (*Clariasgariepinus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 29: 97-103.
3. **Achuba, F.A and Ekute, B.O. (2017).** Effect of exposure to chronic petroleum pollution on biomarkers of oxidative stress in African TOAD (*buforegularis*) in parts of delta state, NIGERIA. *Proceedings of the 4th Delta State University Faculty of Science International Conference*, 104-1010.
4. **Achuba, F.I. (2010).** Spent engine oil mediated oxidative stress in cowpea (*Vignaunguiculata*) seedlings. *Electronic Journal of Environment and Food Chemistry*. 9(5): 910-917
5. **Ajugwo, A.O., Adias, T.C., Aghatise, K., Fadairo, J.K., Nyenke, C.U. (2014).** Reduced haematological indices in auto-mechanics and fuel attendants in Elele Nigeria. *Am J Med Biol Res.vol : 2:1–4*.
6. **Anonyme1. (2006).** Conférence européenne des ministres des Transports. "Glossaire des statistiques de transport ", 3^{ème} Éditions Nations Unies. pp.72-73.
7. **Anonyme2. (2002) .**ACTIVITE AMONT -DIVISION Technologies & Développement Boumerdès (Algérie).
8. **Aslani, A.B ., Ghobadi, S. (2016).**Studies on oxidants and antioxidants with a brief glance at their relevance to the immune system. *Life Sci.* 146, 163-73.
9. **ATSDR. (2006).**Naphthalene, 1-Methylnaphthalene, and 2-Methylnaphthalene. The Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) Toxicity Profile ; 2006.
10. **Azari, M.R., Konjin, Z.N., Zayeri, F., Salehpour, S., Seyedi, M.D. (2012)** .Occupational exposure of petroleum depot workers to BTEX compound.*Int J Occup Environ Med ;3:39–44*.
11. **Banday, A.A., Priyamvada, S., Farooq, N., Yusufi, A.N.K., Khan, F. (2008).** Effect of uranyl nitrate on enzymes of carbohydrate metabolism and brush border membrane in different kidney tissues,*Food and ChemicalToxicology*, 46, 2080-2088.
12. **Bandla, H.P., Davis, S.H., Hopkins, N.E.(1999).** Lipoid pneumonia: a silent complication of mineral oil aspiration. *Pediatrics* 1999; 103 (2): e19.

13. **Barro, J., Casini, A., Samii, K. (2013).** Anémie. Département de médecine communautaire, de premier recours et des urgences Service de médecine de premier recours. Hôpitaux universitaires de Genève. 15 pages.
14. **Battacharya, S.K., Satyan, K.S., Ghosal, S. (1997).** Antioxidant activity of glycol with an olides from *With aniasomnifera*. Indian Journal of Experimental Biology,35p.
15. **Bayraktar, N.M., Karagözler, A.A., Bayraktar, M., Titretir, S., Gozukara, E.M. (2006).**Investigation of the blood biochemical status of gas station workers. Toxicol Environ Chem;88: 587–94, <https://doi.org/10.1080/02772240600842383>.
16. **Bonnefont-Rousselot, D., Thcrond, P., Delattre, J. (2003).** Radicaux libres et anti-oxydants. Dclatrrc, J., Durand, G., Jardillier, J.C. Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires , Médecine-sciences Flammarion Paris, 59-81.
17. **Boussarie, D. (1999).** Hématologie des rongeurs et lagomorphes de compagnie. *Bull. Acad. Vét. de France*. 209-216.
18. **Bradford, M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Volume 72, Issues 1–2, Pages 248-254.
19. **Cadenas, E., and Sies, H. (1998).** The lag phase, Free. Radie. Res. 28 , 601-609.
20. **Catalá, A. (2009).** Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidizedphospholipids active in physiological and/or pathological conditions. *Chem. Phys. Lipids*, 157, 1–11.
21. **CCHST. (2019).**Fiches d'information Réponses SST su l'essence. Mis à jour 2019-05-29. https://www.cchst.ca/oshanswers/chemicals/chem_profiles/gasoline.html
22. **CCHST . (1997).** Fiche d'information Réponses SST sur toxicité du benzène, 1997-2019 .Date de modification : 2019-05-28. Dio : https://www.cchst.ca/oshanswers/chemicals/chem_profiles/gasoline.html
23. **Chung, Bo. Y ., Choi, S.R ., Moon, I. J., Park , C.W., Kim, Y.H., and Chang, S.E. (2016).** The Glutathione Derivative, GSH Monoethyl Ester, May Effectively Whiten Skin but GSH Does Not. *International Journal of Molecular Science*, pages 1-11.
24. **CSM . (2004)** .emploi et toxicité de la paraffine liquide chez l'enfant . *Basel*: Documed; 2004.
25. **Davies, M.J. (2005).**The oxidative environment and protein damage. *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics* 1703, 93-109. *Linical Chemistry* 41, 1819-1828.

26. **De Pontevès, C., Moilleron, R., Meybeck, M., Guegen, Y., Thery, S., Teil, M., Garban, B., Ollivon, D., Chevreuil, M., Blanchard, M and Azimi, S. (2005)** .Conception d'un Système Expert dédié à la synthèse des données disponibles en matière de contamination par les polluants organiques (SEQUAPOP). Paris-France , p 39.
27. **Di Giulio, R.T., Weashburn, P. C., Wenning, R. J., Winston, G. W., & Jewell, C. S. (1989).** Biochemical responses in aquatic animals: a review of determinants of oxidative stress. *Environ. Toxicol. Chem.*, **8**, 1103-1123.
28. **Di Guilio, R. T., Habig, C., and Gallagher, E. P. (1993).** Effects of Black Rock Harbor sediments on indices of biotransformation, oxidative stress and DNA integrity in channel catfish. *Aquat. Toxicol.*, **26**, 01-22.
29. **Dictionnaire médicale. (2019).** Définition le mot : l'insuffisance rénale anurique. le site web : <http://www.doctissimo.fr/sante/dictionnaire-medical/insuffisance-renale-anurique>.
30. **Djordjević, VB., Zvezdanović, L., Ćosić, V.(2008).**Oxidative stress in human diseases, 158-165.
31. **Dringen, R. (2000).** Metabolism and functions of glutathione in brain. *Prog Neurobiol.* **62**, 649–71.
32. **Dröge, W. (2002).** Les radicaux libres dans le contrôle physiologique de la fonction cellulaire, *Physiol Rev* **82** (1), 47–95.
33. **Dupuis, A., et Ucan-Marin, F. (2015).** Analyse documentaire de la toxicologie aquatique des huiles de pétrole : un aperçu des propriétés du pétrole et de ses effets sur le biote aquatique. Secr. can. de consult. sci. du MPO. Doc. de rech. 2015/007. vi + 55 p.
34. **ECB . (2003).** Naphthalene. European Union Risk Assessment Report. (dio: <https://echa.europa.eu/fr/home>).
35. **Edminster, S.C., Bayer, M.J. (1985).** Recreational gasoline sniffing: acute gasoline intoxication and latent organolead poisoning. *Case reports and literature review*, **3**(5): 365-70.
36. **El-Masri, H ., Stanley, J.S., yang, M ., long, P.H. (2003).** Draft Toxicological Profile for Naphthalene, 1-Methylnaphthalene, and 2-Methylnaphthalene, *U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR)*.
37. **Espinosa, É et Chillet, P. (2010)** .Immunologie. Lieu d'édition : Paris. Editeur : Ellipses. Vol : 1. 511 pages.
38. **Favier, A. (2003).** Concept and experimental interest to understand diseases mechanisms and therapeutic approaches. Le stress oxydant (Intérêt conceptuel et expérimental dans la

- compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique). Mécanismes biochimiques, 108-115.
39. **Francis, M., Jr, Le N.A. (2014).** Lipoprotein-associated oxidative stress: A new twist to the postprandial hypothesis. *International Journal of Molecular Science*; 16, 401–419.
40. **Frederic, É. (2004).** Article sous titre, Paraffine, novembre 2004 -<http://fred.elie.free.fr> - page ¾.
41. **GEH . (2007).** Le contenu et le format de cette fiche de données de sécurité GEH, sont conformes au règlement (CE) N° 1907/2006 du parlement Européen et du Conseil. Remplace la fiche : 23/10/2007.
42. **Gerard, D. (2018)** . professeur au Lycée Faidherbe de Lille, fiche de titre : Alcènes et autres composés éthyléniques, en avril 2015 ; Dernière mise à jour : juillet 2018 site web :<https://www.faidherbe.org/site/cours/dupuis/ethyled.htm>.
43. **Glass, D.C., Gray, C.N., Jolley, D.J., Gibbons, C., Sim, M.R., Fritschi, L., et al. (2003).** Leukemia risk associated with low-level of benzene exposure. *Epidemiology*. 14:569–77.
44. **Guibet, J. C. (2011).** ‘Carburants liquides, caractéristiques et principes généraux’, technique d’ingénieur. Be : 8543.
45. **Guibet, J.C. (1997).** Carburants et moteurs technologie-énergie environnement’, Tom 1, 1997.
46. **Guichardant, M., Bacot, S., Molière, P., Lagarde, M. (2006).** Les biomarqueurs de la peroxydation lipidique. UMR 585 Inserm/Insa de Lyon Laboratoire de physiopathologie des lipides et membranes Bât, 31-34. <https://www.ocl-journal.org>.
47. **Gutteridge, J.M.C. (1995).** Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *CLINICAL CHEMISTRY*, Vol. 41, No. 12, 1819-1 828.
48. **Halliwell, B. (1994).** Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutr Rev* 52, 253-265.
49. **Halliwell, B. (2006).** Reactive Species and Antioxidants. *Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. Plant Physiol.* 2006 Jun; 141(2), 312–322. doi: 10.1104/pp.106.077073
50. **Halliwell, B., and Gutteridge, J. M. C. (2007).** Free Radicals in Biology and Medicine, (3rdéd). Oxford: Oxford Univcrsity Press, 31-98.
51. **INERIS. (2005).** Hydrocarbures aromatiques polycycliques. Guide méthodologique. Acquisition des données d’entrée des modèles analytiques ou numériques de transferts

- dans les sols et les eaux souterraines. (Institut national de l'environnement industriel et des risques, France), p 80.
52. **INERIS. (2005).** Naphtalène. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. (www.ineris.fr/).
53. **INERIS. (2006).** DRC-01-25590-01DR027.doc. Version N° 1.2 – Juin 2006 p 6-7.
54. **INRS. (1993).** Toxicologie, environnement, législation. (Collection Moniteur Internat,) Groupe Liaisons SA, 1993 ; pp. 269-284. (Tome 1). Benzène sanguin. Mise à jour : mai 2005.
55. **INRS. (1999).** Base de données FICHES TOXICOLOGIQUES n: 95, la page 02/9, sous titre Essence spéciales, le site web www.inrs.fr/fichetox , -Edition : 1999.
56. **INRS. (2006).** Evaluation des risques sanitaires liés aux mélanges de nature chimique. Mandin C et Déléry L. Unité évaluation des risques sanitaires, 45960/27. Pp30.
57. **INRS. (2008).** Essences spéciales. Fiche toxicologique n°96, Les conseils de prudence P sont sélectionnés selon les critères de l'annexe 1 du règlement CE n° 1272/2008. 265-151-9.
58. **INRS. (2011).** Base de données FICHES TOXICOLOGIQUES n:132, la page 02/07, sous titre Essence de térébenthine, le site web www.inrs.fr/fichetox , - Edition : Mise à jour 2011.
59. **Jacques, M. (2019).** « ALCÈNES ou OLÉFINES », Encyclopædia Universalis France , consulté le 20 mai 2019. Le site web <http://www.universalis.fr/encyclopedie/alcanes-olefines/>.
60. **Jean et Louis, V. (2017).** Société Chimique de Franc, sous-titre BENZENE C₆H₆, TOLUENE C₇H₈, XYLENES C₈H₁₀, le derinière Mis à jour, en août 2017.
61. **Journal officiel de l'Union européenne. (2009).** Article 2 Règlement (CE) no 1223/2009 du Parlement européen et du Conseil du 30 novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques. L 342/59.
62. **Jon, G. S., Jeffrey, R. A., et April, E. R. (2018).** Oxidative Stress as Cause, Consequence, or Biomarker of Altered Female Reproduction and Development in the Space Environment. International journal of molecular sciences. Dec: 19(12), 37-29.
63. **Kirkeleit, J., Riise, T., Gjertsen, B.T., Moen, B.E., Braveit, M., Bruserua, Q. (2008).** Effect of benzene in human hematopoiesis. *Open Hematol J.* 2:87–102.

64. **Koji, A., and Toshio, N. (2013).** Impaired Glutathione Synthesis in Neurodegeneration. *International Journal of Molecular Sciences.* 14, 21021-21044.
65. **Laboratoire MAT INC. (2014).** FICHE SIGNALÉTIQUE : Paraffine (MoRC Eaux Blanches), Centre Anti-Poison pour le Québec: (800) 463-5060, 610, rue Adanac, Québec (Québec) G1C 7B7, page 02, dernière mise à jour: 28-11-2014.
66. **Labrot, F., Ribera, D., Saint-Denis, M., and Narbonne, J. F. (1996).** In vitro and in vivo studies of potential biomarkers of lead and uranium contamination: lipid peroxydation, acetylcholinesterase and glutathione peroxydase activities in three non-mammalian species. *Biomarkers*, 1, 21-28.
67. **Lan, Q., Zhang, L., Li, G., Vermeulen, R., Weinberg, R.S., Dosemeci, M., et al. (2004).** Hematotoxicity in workers exposed to low levels of benzene. *Science*. 306:1774–6.
68. **Li, P., Hu, X., Gan, Y., Gao, Y., Liang, W., Chen, J. (2011).** Mechanistic insight into DNA damage and repair in ischemic stroke: exploiting the base excision repair pathway as a model of neuroprotection. *Antioxidants & Redox Signaling*. 14(10), 1905–1918, doi: 10.1089/ars.2010.3451.
69. **Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., and Abete, P. (2018).** Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in Aging*. 13, 757–772.
70. **Livingstone, D. R. (1993).** Biotechnology and pollution monitoring: use of molecular biomarker in the aquatic environment. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 57, 195-211.
71. **Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N. (2010).** Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharm. Rev.* 4, 118–126. doi: 10.4103/0973-7847.70902
72. **Mackay, D., Shiu, W.Y. et Ma, K.C. (1992).** Illustrated Handbook of Physical-Chemical Properties and Environmental Fate for Organic Chemicals, Volume 1, Lewis Publishers, Boca Raton (1992).
73. **Mandal, S., Yadav, S., Yadav, S., Nema, R.K. (2009).** Antioxidants: A review. *J. Chem. Pharm. Res.* 1, 102–104.

74. **Michael, M., Gaschleret, Brent. R, Stockwell. (2017).** Lipid peroxidation in cell death. *Biochem Biophys Res Commun* ; 482(3), 419–425.
75. **Michel, F., Bonnefont-Rousselot, D., Mas, E., Drai, J., Thérond, P. (2008).** Biomarqueurs de la peroxydation lipidique : aspects analytiques, Volume 66, numéro 6, novembre-décembre.
76. **Migdal, C., et Serres, M. (2011).** Espèces réactives de l’oxygène et stress oxydant. *Med Sci Paris* Volume 27, Number 4, 450-412. <https://doi.org/10.1051/medsci/2011274017>.
77. **Miller, J.K., Brzezinska-Slebodzinska, E., Madsen, F.C. (1993).** Stress oxydant, antioxydants et fonction animale. *J Dairy Sci*, 76 (9), 2812–2823.
78. **Niki, E., Yoshida, Y., Saito, Y., Noguchi, N. (2005).** Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 338, 668–676.
79. **Nosbaum, A., Vocanson, M., Rozieres, A., Hennino, A., Nicolas, J.F. (2009).** Allergic and irritant contact dermatitis. *Eur J Dermatol* ; 19 (4): 325-32.
80. **Odewabi, A.O., Ogundahunsi, O.A., Oyalowo, M. (2014).** Effect of exposure to petroleum fumes on plasma antioxidant defense system in petrol attendants. *Br J Pharmacol Toxicol* ; 5:83-7.
81. **OFCL. (2006).** Mis en garde concernant l’utilisation d’essence pour moteurs, N° d’article : 311.788.d, 311.788.f, 311.788.i, 2 pages.
www.bbl.admin.ch/bundespublikationen .
82. **Okoro, A.M., Ani, E.J., Ibu, J.O., Akpogomeh, B.A. (2006).** Effect of petroleum products inhalation on some haematological indices of fuel attendants in Calabar Metropolis, Nigeria. *Nig J Physiol Sci.* 21:71–5.
83. **Phaniendra, A., Jestadi, DB., Periyasamy L. (2015).** Les radicaux libres : propriétés, sources, cibles et leur implication dans diverses maladies. *Indian J ClinBiochem*, 30 (1), 11–26.
84. **Pharmacopée Européenne. (2001).** Strasbourg: Conseil de l’Europe; 2001. p. 1850–2.
85. **Pharmacopée Européenne. (2008).** “Paraffine liquide,”. p. 2797,2798, 2008.
86. **Pilorget, C., Dananche, B., Luce, D., Fevotte, J. (2007).** "Éléments techniques sur l’exposition professionnelle aux carburants et solvants pétroliers". Institut de veille sanitaire, pp. 6-8. 2007.
87. **Pilz, J., Meineke, I., Gleiter, C.H.(2000)** .Measurement of free and bound malondialdehyde in plasma by high-performance liquid chromatography as the 2,4-dinitrophenylhydrazine derivative. *J. Chromatogr.B Biomed. Sci. Appl*, 742, 315–325.

88. **Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.O. (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. Volume 16, Issue 4, Pages 233-239.
89. **Powers, S.K., Duarte, J., Kavazis, A.N., Talbert, E.E. (2010).** Reactive oxygen species are signalling molecules for skeletal muscle adaptation. *Experimental physiological*, 95, 1–9.
90. **Putnam, C.D., Arvai, A.S., Bourne, Y., Tainer, J.A. (2000).** Active and inhibited human catalase structures: ligand and NADPH binding and catalytic mechanism. *J Mol Biol* 296, 295-30.
91. **Qu, Q., Shore, R., Li, G., Jin, X., Chen, L.C., Cohen B., et al. (2002).** Hematological changes among Chinese worker with a broad range of benzene exposures. *Am J Ind Med*. 42:275–85.
92. **Raza, H., Qureshi, M.M., Montague, W. (1995).** Alteration of glutathione, glutathione S-transferase and lipid peroxidation in mouse skin and extracutaneous tissues after topical application of gasoline, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. Volume 27, Issue 3, Pages 271-277. [https://doi.org/10.1016/1357-2725\(95\)93663-I](https://doi.org/10.1016/1357-2725(95)93663-I).
93. **Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Weller, P.J. (2003).** Handbook of pharmaceutical excipients. 4th ed. London: Pharmaceutical Press. p. 395–7.
94. **Sahb, A.A.A. (2013).** Hematological assessment of gasoline exposure among petrol filling workers in Baghdad. *J Fac Med Baghdad*. 2011;53:396–400.
95. **Salisbury, D., Bronas, U. (2015).** Espèces oxygénées et azotées réactives: impact sur le dysfonctionnement endothélial. *Infirmière Res*, 64 (1), 53–66.
96. **Serras-pereira, J., Aleiferis, P. G., et Richardson, D. (2013).** «An Analysis of the Combustion Behavior of Ethanol, Butanol, iso-octane, Gasoline, and Methane in a Direct-injection Spark-ignition Research Engine ». *Combustion Science and Technology*, vol. 185, no 3, p. 484-513.
97. **Sharif, F., Crushell, E., O'Driscoll, K., Bourke, B. (2001).** Liquid paraffin: a reappraisal of its role in the treatment of constipation. *Arch Dis Child* 2001; 85: 121–4.
98. **Sies, H., Jones, D. (2007).** Stress oxydatif. Dans : Fink G, éditeur. *Encyclopédie du stress* (deuxième édition) Academic Press, New York, USA ,45–48.

99. **SONATRACH. (2012).** Journée d'études sur la médiatisation de l'essence sans plomb SONATRACH – Division Raffinage Production des Essences sans Plomb Post-Réhabilitation des Raffineries 23 Mai 2012.
100. **Sparfel, L. (2016).** Effets immunotoxiques des polluants environnementaux : exemple des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Archives des Maladies Professionnelles et de L'Environnement, Elsevier Masson, 2016, 77 (6), pp.990-997.
101. **Sun, M ., Jin, H., Sun, X., Huang, S., Zhang, F.L., Guo, Z.N., and Yang, Y.(2018).** Free Radical Damage in Ischemia-Reperfusion Injury: An Obstacle in Acute Ischemic Stroke after Revascularization Therapy. Oxidative Medicine and Cellular Longevity , Article ID 3804979, 17 pages.
102. **Thannickal, V.J., Fanburg, B.L. (2000).** Espèces réactives de l'oxygène dans la signalisation cellulaire, 279, 1005-1028.
103. **The Lancet. (1990).** The liquid paraffine restricted. Volume 336, Issue 8709. P240. Doi : [http://doi.org/10.1016/0140-6736\(90\)91758-3](http://doi.org/10.1016/0140-6736(90)91758-3).
104. **Trivalle, C., Profit, P., Bonnet, B., et al. (1991).** Lipogranulomes hépatiques à l'huile de paraffine responsables d'une fièvre au long cours. *Gastroenterol Clin Biol* 1991; 15: 551–3
105. **Tsikas, D., Suchy, M.T., Niemann, J., Tossios, P., Schneider, Y., Rothmann, S., Gutzki, F.M., Frölich, J.C., Stichtenoth, D.O. (2012).** Glutathione promotes prostaglandin H synthase (cyclooxygenase)-dependent formation of malondialdehyde and 15(S)-8-iso-prostaglandin F2₂. *FEBS Lett.* 586, 3723–3730.
106. **Tsikas, D. (2017).** Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges, *Anal, Biochem*, 524, 13–30.
107. **Tunsaringkarn, T., Soogarun, S., Palasuwa, A. (2013).** Occupational exposure to benzene and changes in hematological parameters and urinary trans, trans-muconic acid. *Int J Occup Environ.* 4:45–9.
108. **Udonwa, N.E., Uko, E.K., Ikpeme, B.M., Ibanga, I.A., Okon, B.O . (2009).** Exposure of petrol station attendants and auto mechanics to premium motor spirit fumes in Calabar, Nigeria. *J Environ Public Health.* 2009: 281876.
109. **Ursini, F., Maiorino, M., Brigelius-Flohe, R., Aurnann, K.D., Rovcri, A., Schomburg, D., Flohe, L. (1995).** Diversity of glutathione peroxidases. *Methods Enzymol* 252, 38-53.

110. **Verma, R.J., Dave, M., Mathuria, N. (2008).** A study on toxicity of gasoline and GM-10 on liver of mice and it's amelioration by black tea extract, vol. 65 No, 5pp, 601-605.
111. **Vignes, J.L, André, G., Kapala, F. et al. (1998).** Données, industrielles, économiques, géographiques sur les principaux produits chimiques, métaux et matériaux, benzène toluène xylène, Société française de chimie, 7ème édition, 1996-2005.
112. **Watson, N., Janota, M.S. (1982).** Turbocharging the internal combustion engine. The Macmillan Press. New York. 608p.
113. **Weckbercker, G., Cory, J.G. (1988).** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depended mouse leukaemia L1210 cells in vitro. *Cancer Lett* 40: 257-264.
114. **WHO. (1998)** .World Health Organization ; 1998; Selected non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ mental Health Criteria* 202. International Programme on Chemical Safety. Geneva : Consultable sur le site www.inchem.org/pages/ehc.html .
115. **WHO. (2018).** Interdire les peinture au Plomb ,doi: CED/PHE/EPE/18.06/FR. pp14.
116. **Wolinsky, E. (1994).** Embolic infections of the lungs and lipoid pneumonia. In: Baum GL, Wolinsky E, Eds. *Textbook of pulmonary diseases*. 5th Ed. Boston: Little, Brown & Company; 1994. p. 585–91.
117. **Yagi, K. (1976).** Simple fluorimetric essay for lipoperoxide in blood *Biochem. Med.* Vol. 15: 212-216.
118. **Yoon, B., Hirabayashi, Y., Kawasaki, Y., Kodama, Y., Keneko, T., Kim, A.Y., et al . (2001).** Mechanism of action of benzene toxicity: Cell cycle suppression in hemopoietic progenitor cell (CFU-GM). *Exp Hematol.* 29: 278–85.
119. **Zelko, I.N., Marian, T.J., Folz, R.J. (2002).** Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, évolution, and expression. *Free Rad Biol Med* 33 (3), 337-349.
120. **Zhang, W., Xiao, S., Ahn, D.U. (2013).** Protein oxidation: basic principles and implications for meat quality. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 53(11): pp. 1191-201

Annexes

Annexes

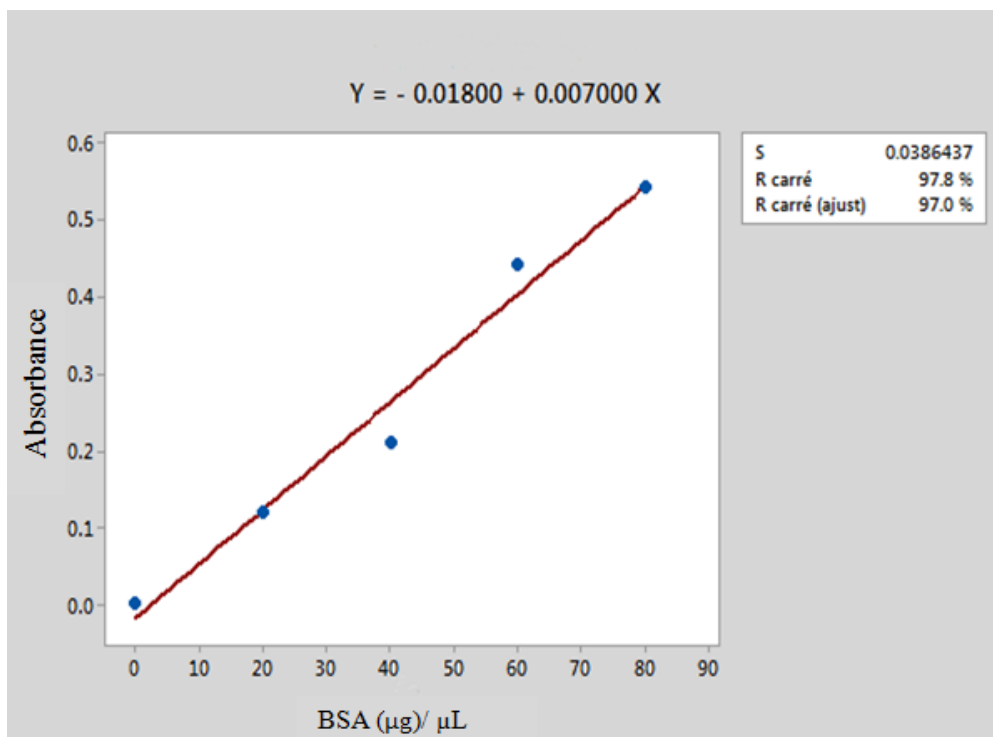
Annexe I. Les rattes dans la cage de polyéthylène (**Photo original, 2019**).



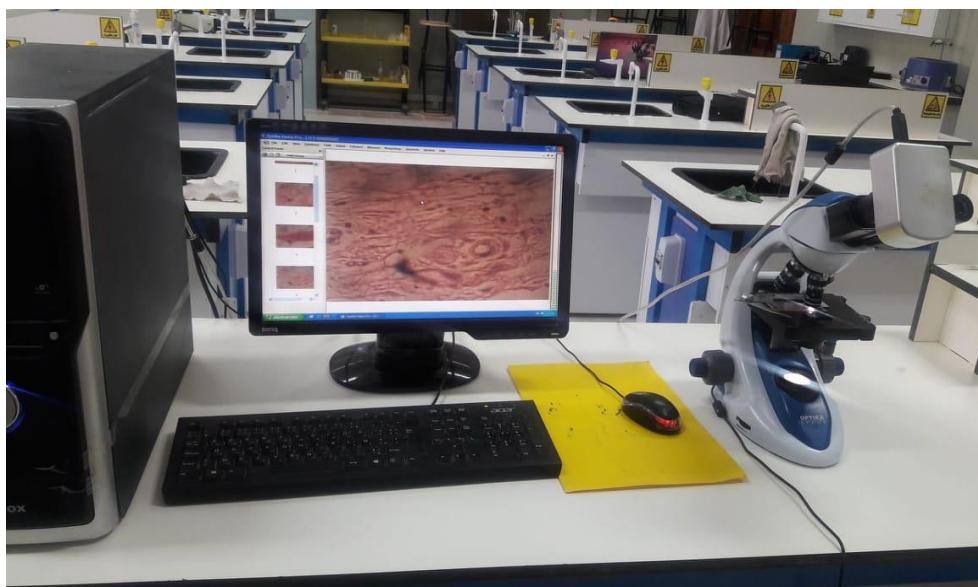
Annexe II. Technique de prélèvement sanguin avant le sacrifice (**Photo original, 2019**).



Annexe III. Courbe d'étalonnage utilisée (BSA 1mg/ml) pour le dosage des protéines tissulaire (**Photo original, 2019**).



Annexe IV. Microscope utilisé pour l'observation des coups histologiques (**Photo original, 2019**).



Annexe V. Images représentent les lésions et les rougeurs au niveau de la peau des rattes traitées (**Photo original, 2019**).



Résumé

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet toxique de l'essence à la suite d'une exposition cutanée chez les rattes *Wistar Albinos*. L'expérimentation réalisée sur 10 rattes divisées en 02 groups : 04 rattes témoin et 06 rattes traité, les dernies sont subissent une période de traitement de 1 moins avec un plan d'application (2 foie/ semaine). Les résultats obtenus montrer une augmentation significative ($p<0,05$) dans le nombre de GR, lymphocyte et monocytes, et une augmentation hautement significative ($p\leq 0,01$) dans le nombre de GB, avec aucune changement dans le taux d'hémoglobine ($p>0,05$). En revanche on note une diminution des indices érythrocytaires traduit sauf le volume globulaire moyen (VGM) ne sera pas touché. L'essence induit une perturbation dans le paramètres de stress oxydatif, qui traduit par la diminution du taux de glutathion réduit (GSH) d'une façon significatif ($p\leq 0,05$) dans le foie et non significatif ($p\geq 0,05$) dans le rein, au contraire, une augmentation significatif ($p\leq 0,05$) de taux de l'MDA est observé dans le rein, avec une augmentation non significative ($p>0,05$) dans le foie. De plus, les coupes histologiques montrent la présence de réaction inflammatoire au niveau de la peau de rattes traitées.

Mots clés : Essence, *Wistar Albinos*, la peau, stress oxydatif, indices érythrocytaires, réaction inflammation

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة الآثار السمية الناجمة عن التعرض للبنزين عن طريق الجلد لدى جرذان التجارب من نوع *Wistar Albinos*. أجريت هذه التجربة على عشرة إناث من الجرذان مقسمة إلى مجموعتين: مجموعة مكونة من أربعة جرذان شاهدة سليمة، وستة جرذان معالجة حيث عرضت هذه الأخيرة إلى البنزين لمدة شهر بمعدل تعرض مرتين في الأسبوع. أثبتت النتائج المتحصل عليها ارتفاعا ($p<0,05$) في عدد كل من: كريات الدم الحمراء، الخلايا اللمفاوية و الخلايا الأحادية، مصحوبة بارتفاع ($p\leq 0,01$) مهم في عدد كريات الدم البيضاء. مع عدم ملاحظة أي تغيير في تركيز الهيموغلوبين في الدم. من جهة أخرى لاحظنا انخفاضا معتبرا في مؤشرات كريات الدم الحمراء ماعدا الحجم المتوسط للكريات (VGM) فلم يتغير. أثر البنزين سلبا على مؤشرات الإجهاد التأكسدي و ذلك من خلال خفض تركيز GSH في الكبد ($p\leq 0,05$) مع تسجيل انخفاض مهم على مستوى الكلية ($p>0,05$), و رفع تركيز MDA في الكلية ($p\leq 0,05$) مع تسجيل ارتفاع غير معتبر في الكبد ($p>0,05$). بالإضافة إلى المقاطع التشريحية التي برهنت بدورها على وجود التهابات على مستوى الجلد للجرذان المعالجة.

الكلمات المفتاحية: البنزين, *Wistar Albinos*, الجلد, الإجهاد التأكسدي, مؤشرات كريات الدم الحمراء, تفاعل التهابي.