



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université Echahid Hamma Lakhdar - El OUED

جامعة الشهيد حمزة لخضر الوادي

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de biologie cellulaire et moléculaire

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Filière : Sciences biologiques

Option : Toxicologie

THEME

Effet de l'exposition à l'extrait gomme résine de *ferula assa-foetida* sur quelques bio marqueurs de stress oxydant (MDA /Activité CAT) chez *paramecium sp*

Présenté Par:

M^{elle} REZZAG AOUID Abir

M^{elle} TELIB Mehdi

M^{elle} TRILLI Hanine

Devant le jury composé de :

Président: Pr. MEDILA Ifriqya

Examineurs: Dr. LAOUIEUR Meriem

Promoteur: Dr. OTMANI Hadjer

Grade : université

Pr, Université d'El-Oued

M.A.A, Université d'El-Oued

M.C.B, Université d'El-Oued

Année universitaire 2023/2024



Remerciements

Par-dessus tout, nous remercions Dieu Tout-Puissant de nous avoir donné force, courage et persévérance et de nous avoir permis d'accomplir cet humble travail.

Merci de nous avoir montré le chemin du succès.

Nous exprimons tout d'abord nos profonds remerciements et notre gratitude à Mme Otmani Hadjar, qui a supervisé et géré ce travail depuis le début.

Nous la remercions pour son sérieux et ses efforts pour nous aider, nous conseiller et nous orienter. Son ouverture et sa vision de la recherche scientifique nous ont été aussi importantes que ses connaissances scientifiques et ont grandement contribué au développement de cette étude. Nous lui exprimons notre profond respect et nos chaleureux remerciements.

Nous tenons tout particulièrement à remercier Dr. Khalaf Yahya pour son aide précieuse pour maîtriser le spss, ses commentaires et conseils techniques et scientifiques.

Merci pour votre soutien et votre disponibilité.

Nous remercions également les membres du comité de discussion de nous avoir honorés en évaluant et en jugeant notre travail.

Nous exprimons également nos sentiments de gratitude et de remerciements au personnel administratif de notre faculté ainsi qu'à tous nos enseignants pour tous leurs efforts tout au long de notre parcours universitaire.

Un grand merci au personnel du laboratoire. Nous tenons également à exprimer nos remerciements à nos camarades étudiants de la promotion de toxicologie 2024.



Dédicace

*Louange à Dieu pour l'amour, les remerciements et la gratitude pour le début et la fin
Je dédie cette réussite d'abord à moi-même, qui suis très ambitieux, puis à tous ceux qui ont
travaillé avec moi pour mener à bien ma carrière.*

*Au défunt de mon cœur, mon cher frère, " Othman Al-Cherif ", que Dieu ait pitié de lui.
À celui dont le front était couvert de sueur et qui m'a appris que le succès ne vient qu'avec
patience et persévérance, à la lumière qui a éclairé mon chemin et à la lampe dont la
lumière ne s'éteint jamais par mon cœur, du sacrifice du précieux et du précieux, et d'où
j'ai tiré ma force et mon estime de moi.*

Mon cher père, " Rezzag Aouid Mohammed "

*À celle qui mon paradis sous ses pieds, qui m'a facilité l'adversité par ses prières, au grand
être humain qui a toujours souhaité me voir un jour comme celui-ci, source d'amour et de
tendresse, reine de mon cœur .*

Ma mère bien-aimée, " Hassouna Dalila "

*À mon côté ferme et à la sécurité de mes jours, à ceux avec qui j'ai renforcé mon soutien,
aux jours les meilleurs et les plus clairs de mes jours, à la prunelle de mes yeux.*

Mes chers frères, " Mohammed Al-Alami et Ahmed Chaouki "

*À ma compagne, ma seconde moitié, une partie de mon âme qui était et restera la source de
ma force et de ma constance, la lumière de mes yeux*

" Ma chère sœur Ammaria et ses enfants sont une source de joie et de bonheur " .

*Aussi, mon " beau-frère Rochdi "... il a tous les remerciements et appréciations pour les
efforts qu'il a déployés pendant le voyage de son maître.*

*À celui qui m'a soutenu dans tous les moments difficiles, qui m'a encouragé lorsque j'ai
échoué et qui ne m'a pas donné le chemin du désespoir "Mohammed El-Bachir Benine "*

*Je vous dédie cette réalisation et le fruit de ma réussite, que j'ai toujours souhaité... Me
voici aujourd'hui, complétant mon chemin et réalisant ce que je voulais. Louange à Dieu
pour ce qu'Il m'a donné.*

Votre diplômé, "Rezzag Aouid Abir"



Dédicace

L'histoire s'est terminée et j'ai levé mon bonnet de fin d'études, faisant mes adieux aux années passées.

Je dédie mon diplôme et le fruit de mes efforts à ma bougie lumineuse, à mon refuge et à ma sécurité, et au pouls silencieux de mes veines, à ma mère affectueuse.. .

et à mon soutien, mon soutien, mon penchant, et mon côté ferme qui ne tend pas à mon cher père... à qui je suis heureux de voir leurs visages et mon cœur se réjouit d'entendre le tintement de leurs rires. frères bien-aimés...

À toute ma famille qui m'a été d'une grande aide tout au long de mon parcours universitaire...

À ceux qui ont marché ensemble alors que nous avons ouvert la voie pour cueillir la fleur de nos efforts, mes amis fidèles...

À ceux qui ont donné moi des sources de leurs connaissances et de leur expérience. Leurs vies sont des professeurs distingués...

À tous ceux qui nous ont tendu la main pour mener à bien ce travail....

TELIB Mehdi



اهراء

بسم الله الرحمن الرحيم

قال رسول الله صلى الله عليه وسلم: " من سلك طريقا بيتغي فيه علما سهل الله له طريقا الى الجنة" [رواه أبو داود]

الحمد لله الذي بلغنا لذة الوصول ونعمة النجاح. اهدي هذا العمل الى والدي الغالي رمز الصمود والعطاء، الى امي الحنون الداعمة الأولى، الى اخواتي رفيقات الدرب، وصديقاتي، وإلى كل المثبتين، لقد نجحت. الى نفسي القوية على الاستمرار والثبوت. الى إخواننا في فلسطين نصركم الله وفرج كريكم. وان لندرجوا ان نكون قد حققنا الغاية وأصبنا الهدف والله عز وجل يسدد خطانا ويهدي سبيلنا.

طريلي حنين

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des Figures

Liste des tableaux

Liste des Abréviation

Introduction	1
--------------------	---

Partie I. Synthèse Bibliographique

Chapitre 01 : Généralité Sur *Ferula assa-foetida*

1. Famille des Apiacées	6
2. Genre <i>Ferula</i>	6
3. <i>Ferula assa-foetida</i>	7
4. Position systématique	8
5. Description morphologique	8
6. Répartition géographique	9
7. Composition chimique.....	9
8. Utilisations	9

Chapitre 02 : Biologie de *Paramecium sp*

1. Définition	8
2. Biologie et morphologie	8
3. Classification de la paramécie:	10
4. Locomotion	10
5. Alimentation	10
6. Respiration	11
7. Choix de la paramécie comme modèle biologique:.....	11

Chapitre 03 : Stress oxydant

1. Stress oxydant	14
2. Dérivés actifs de l'oxygène	15
2.1. Définition	15
2.2. Formation des dérivés actifs de l'oxygène	15
3. Cibles des dérivés actifs de l'oxygène.....	16
3.1. Cibles lipidiques	16
3.1.1. Peroxydation non enzymatique	16
3.1.2. Conséquences de la peroxydation lipidique	17

3.2. Cibles non lipidiques	18
3.2.1. L'oxydation des sucres.....	18
3.2.2. L'oxydation des protéines	18
3.2.3. Oxydation de l'ADN	19
4. Système de défense (Antioxydants)	20
4.1. Antioxydants endogènes	21
4.1.1. Super oxydase dismutase (SOD).....	21
4.1.2. Catalase (CAT).....	21
4.1.3. Glutathion réduit	21
4.1.4. Glutathion peroxydases (GPX)	22
4.1.5. Glutathion réductase (GR)	22
4.1.6. Glutathion -S- transférase (GST)	22
4.2. Antioxydants exogènes	23
4.2.1. Vitamine E et C	23
4.2.2. Oligoéléments	24
4.2.3. Polyphénols	25

Partie II. Partie expérimentale

Chapitre 01: Matériels et méthodes

1. Matériels	28
1.1. Matériels végétal.....	28
1.2. Matériels animal	28
1.3. Produits chimiques.....	29
1.4. Verreries de laboratoire	29
1.5. Appareils	29
2. Méthodes	29
2.1. Préparation des colonies de <i>Paramecium sp</i>	29
2.2. Préparation du milieu de culture	30
2.3. Protocole expérimental.....	31
2.4. Dosage des protéines totales	32
2.5. Dosage du malondialdéhyde.....	32
2.6. Dosage de l'activité catalase	33
2.7. Etude statistique:	34

Chapitre 02: Résultats et Discussion

1. Résultats	37
1.1. Effet sur l'évolution du taux de protéines totales.....	37

1.2. Effet sur la variation du monodialdéhyde (MDA).....	38
.1.3 Effet sur la variation de l'activité catalase (CAT).....	38
2. Discussion	39
Conclusion.....	42
Références Bibliographiques.....	45
Annexes	57

Liste des Figures

Figure 1: Ferula assa-foetida	7
Figure 2: Paramécie sous microscope (Grossissement $\times 40$).	9
Figure 3: Organisation générale de la paramécie. (A) Observation de la région ventrale, marquée avec un anticorps reconnaissant les cils ; (B) Représentation schématique des principaux organites.	9
Figure 04: Balance entre les pro-oxydants (ERO) et les antioxydants.....	14
Figure 05: La peroxydation lipidique non enzymatique.....	17
Figure 06: Principales classes de dommages de l'ADN due au stress oxydatif.....	19
Figure 07: Les principales enzymes antioxydants	20
Figure 08: Rôle de la vitamine E et C dans la terminaison de la peroxydation lipidique	24
Figure 9: Mucilage sécrété par les racines de Ferula assa-foetida	28
Figure 10 Paille dans un récipient en verre	30
Figure 11: Colonie de Paramecium sp au microscope électronique	31
Figure 12: Image montrant la poudre de la gomme résine de Ferula assa-foetida	32
Figure 13: Evolution du taux des protéines totales chez Paramecium sp en présence des concentrations croissantes de la gomme-résine de Ferula assa-foetida.....	37
Figure 14: Variation du taux de MDA chez les paramécies en présence des concentrations croissantes de l'oléo-gomme-résine Ferula assa-foetida.	38
Figure 15: Effet des concentrations croissantes de la gomme résine de Ferula assa-foetida sur la variation de l'activité CAT chez Paramecium sp.	39

Liste des tableaux

Tableau 1 : Position systématique de plantes <i>Ferula assa-foetida</i>	8
---	---

Liste des Abréviation

BBC : bleu brillant de Coomassie

CAT :Catalase

g : grame

GPX :Glutathion peroxydases

GR : Glutathion réductase

GSH :glutathion réduit

GST : Glutathion -S- transférase

L : litre

MDA :malondialdéhyde

mg : milligrams

min : minutes

ml : milliliter

SOD : Super oxydase dismutase

TBA : acide thiobarbiturique

umol : micromole

Résumé

La phytothérapie a joué un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies contemporaines, et comme on le sait le stress oxydatif est la cause la plus importante de bon nombre de ces maladies. C'est dans ce contexte que nous avons décidé de commencer notre étude sur l'effet de la gomme de *assa-foetida* avec différentes concentrations (5, 10, 20, et 30 mg /ml) pendant 3 heures, sur quelques biomarqueurs de stress MDA /activité CAT chez un modèle cellulaire, ciliés d'eau douce : *Paramecium sp*, considéré comme un indicateur biologique bien adapté aux études toxicologiques. Les résultats obtenus ont montré une évolution du taux de la principale molécule biologique (les protéines totales), Nous observons une augmentation très hautement significative du taux des protéines totales dans la dernière concentration (30mg/10ml) avec (2,34 µg/mg) de PF par rapport aux témoins (1,34 µg/mg) de PF chez les paramécies. Durant la période de 3 heures nos résultats ont révélé une augmentation significative avec un ($p=0,05$) du niveau de MDA par rapport au témoin dans les deux doses (D1 = 0,527 uml/mg) et (D3 = 0,536 ml/mg) et une augmentation très hautement significative dans la plus forte concentration (D4 = 0,420 ml/mg) avec un ($p=0,001$) par rapport au témoin . Dans la présente étude, l'activité CAT s'est révélée être augmentée après 3 heures d'exposition a la gomme de *assa-foetida*. Les résultats ont montré une augmentation très significative de (D1 = 1682,16 umol/min/mg) protéines, ($P = 0,001$), et significative de (D4 = 2511,02 ml/mg), ($P = 0,027 /0$) par rapport au contrôle, une augmentation très significative de (D3 = 1781,08 ml/mg) et une augmentation non significative de D2 par rapport au témoin.

À partir de ces résultats, on peut dire que la gomme de résine de *Ferula assa-foetida* à perturbé le métabolisme global des paramécies, cette perturbation s'est manifestée par l'augmentation du taux de protéines totales qui est lui-même révélateur d'une perturbation du métabolisme cellulaire, et une augmentation des indicateurs oxydatifs du stress MDA et l'activité CAT.

Mots clés : L'*assa-foetida*, *Paramecium sp*, biomarqueurs, stress oxydatif.

Summary

Herbal medicine has played a major role in the treatment of many contemporary diseases, and as is known oxidative stress is the most important cause of many of these diseases. It is in this context that we decided to begin our study on the effect of *assa-foetida* gum with different concentrations (5, 10, 20, and 30 mg/ml) for 3 hours, on some MDA stress biomarkers / CAT activity in a cellular model, freshwater ciliates: *Paramecium sp*, considered as a biological indicator well suited to toxicological studies. The results obtained showed an evolution in the level of the main biological molecule (total proteins). We observed a very highly significant increase in the level of total proteins in the last concentration (30mg/10ml) with (2.34 μ g/mg) of PF. compared to controls (1.34 μ g/mg) PF in paramecia. During the 3 hour period our results revealed a significant increase with a (p = 0.05) in the level of MDA compared to the control in the two doses (D1 = 0.527 uml/mg) and (D3 = 0.536 ml/mg) and a very highly significant increase in the highest concentration (D4 = 0.420 ml/mg) with a (p = 0.001) compared to the control. In the present study, CAT activity was found to be increased after 3 hours of exposure to *assa-foetida* gum. The results showed a very significant increase in (D1 = 1682.16 umol/min/mg) protein, (P = 0.001), and significant increase in (D4 = 2511.02 ml/mg), (P = 0.027 /0) compared to the control, a very significant increase in (D3 = 1781.08 ml/mg) and a non-significant increase in D2 compared to the control.

From these results, we can say that *Ferula assa-foetida* resin gum disrupted the overall metabolism of paramecia, this disruption was manifested by the increase in the level of total proteins which itself reveals a disruption of cellular metabolism, and an increase in oxidative stress indicators MDA and CAT activity.

Key words: *Assa-foetida*, *Paramecium sp*, biomarkers, oxidative stress.

ملخص

لقد لعب طب الأعشاب دوراً كبيراً في علاج العديد من الأمراض المعاصرة، وكما هو معروف فإن الإجهاد التأكسدي هو أهم سبب للعديد من هذه الأمراض. وفي هذا السياق قررنا أن نبدأ دراستنا حول تأثير صمغ الحلتيت بتركيزات مختلفة (5، 10، 20، 30 ملغم/مل) لمدة 3 ساعات، على بعض المؤشرات الحيوية للإجهاد MDA / نشاط CAT في نموذج خلوي. أهداب المياه العذبة: يعتبر *Paramecium sp* مؤشراً بيولوجياً مناسباً تماماً للدراسات السمية. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها تطوراً في مستوى الجزيء البيولوجي الرئيسي (البروتينات الكلية) وقد لاحظنا زيادة كبيرة جداً في مستوى البروتينات الكلية في التركيز الأخير (30 ملجم/10 مل) مع 2.34 ميكروجرام/ملجم من PF مقارنة للتحكم في (1.34 ميكروجرام/ملغ) PF في الباراميسيا. خلال فترة 3 ساعات كشفت نتائجنا عن زيادة معنوية ($p = 0.05$) في مستوى MDA مقارنة بالتحكم في الجرعتين ($D1 = 0.527 \text{ uml/mg}$) و ($D3 = 0.536 \text{ ml/mg}$) ونسبة معنوية عالية جداً. الزيادة في أعلى تركيز ($D4 = 0.420 \text{ ml/mg}$) مع ($p = 0.001$) مقارنة بالتحكم. في الدراسة الحالية، وجد أن نشاط CAT يزداد بعد 3 ساعات من التعرض لصمغ الحلتيت. أظهرت النتائج زيادة معنوية جداً في ($D1 = 1682.16 \text{ ml/mg}$) ميكرومول/دقيقة/مجم بروتين، ($P = 0.001$)، وزيادة معنوية في ($D4 = 2511.02 \text{ ml/mg}$) ، ($P = 0.027/0$) مقارنة بالتحكم، زيادة كبيرة جداً في ($D3 = 1781.08 \text{ ml/mg}$) و زيادة غير معنوية في D2 مقارنة بالتحكم.

من هذه النتائج يمكننا القول أن صمغ *Ferulaassa-foetid* راتنجي عطل عملية التمثيل الغذائي الشامل للباراميسيا، وقد تجلى هذا الخلل في زيادة مستوى البروتينات الكلية والذي يكشف في حد ذاته عن اضطراب في التمثيل الغذائي الخلوي، وزيادة في مؤشرات الإجهاد التأكسدي MDA ونشاط CAT.

الكلمات المفتاحية: الحلتيت، الباراميسيوم ، المؤشرات الحيوية، الإجهاد التأكسدي.

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires (**Boudjouref, 2011**), ces dernières, en particulier sont doués de multiples vertus thérapeutiques. Ils jouent un rôle très important, principalement dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et la peroxydation lipidique, expliquant ainsi leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments (**Bruneton, 2009**).

L'asa-foetida, également appelée "férule persique", est une substance résineuse d'origine végétale, utilisée principalement en cuisine et en médecine traditionnelle. Elle provient de la plante *Ferula assa-foetida*, qui appartient à la famille des Apiaceae. La récolte de cette résine s'effectue en incisant les racines de la plante et en recueillant le latex qui s'écoule. Ce dernier se solidifie ensuite au contact de l'air, formant des blocs ou des granules (**Alireza et al., 2019**).

Caractérisée par son odeur forte et désagréable, *l'asa-foetida* est surtout utilisée comme condiment dans la cuisine indienne et moyen-orientale pour relever les plats grâce à sa saveur légèrement piquante et amère. En médecine traditionnelle, elle est reconnue pour ses propriétés digestives, antispasmodiques et expectorantes, bien que certaines de ces vertus n'aient pas été scientifiquement prouvées (**Alireza et al., 2019**).

L'organisme humain subit un phénomène d'oxydation ce qui engendre une surproduction des espèces réactives de l'oxygène ERO, parmi lesquels des radicaux libres, responsable à l'établissement d'un stress oxydatif. Ce dernier est la cause de dommages dans les molécules biologiques (ADN, protéines, glucoses et lipides), d'où l'apparition de plusieurs maladies, telles que le cancer et l'athérosclérose (**Evans, 1999 et Favier, 2003**). Afin de lutter contre ces radicaux nocifs, l'organisme humain utilise des systèmes de défense antioxydants endogènes (superoxyde dismutase et catalase...etc.) et exogènes apportés par l'alimentation (**Pham-Huy et al., 2008**).

Bref, le but de notre mémoire est axé sur l'effet de la gomme résine d'une plante médicinale dont le nom scientifique est *Ferula assa-foetida*, sur quelques biomarqueurs de stress MDA et l'activité CAT chez *paramecium sp*. Le choix c'est porté sur ces organismes unicellulaires (Protozoaires), pour leurs facilité d'observation présentent caractères

physiologiques comparables à celle des cellules épithéliales des êtres humains, facilement accessibles à un plus grand nombre d'observateurs (**Arnaiz *et al.*, 2020**).

Pour atteindre cet objectif, nous avons divisé notre étude en deux parties, la première est une synthèse bibliographique, divisé en trois chapitres:

- **Chapitre 01:** Généralité Sur *Ferula assa-foetida*
- **Chapitre 02:** Biologie de *Paramecium sp*
- **Chapitre 03:** Stress oxydant

Quant à la deuxième partie expérimentale comporte deux chapitres:

- **Chapitre 01:** Matériels et Méthodes
- **Chapitre 02:** Résultats et Discussion

Et enfin une conclusion générale et des perspectives.

Partie I.

Synthèse Bibliographique

Chapitre 01:

Généralité Sur *Ferula assa-foetida*

1. Famille des Apiacées

La famille des Apiacées est une famille de plantes appartenant à la classe des Magnolopsida (Dicotylédones). Elle est composée d'environ 3 511 espèces réparties en 446 genres dont 3 ont été inclus dans notre étude : *Dorema*, *Ferulago* et *Ferula*. Cette famille est présente sur presque tout le globe, mais surtout dans les régions tempérées de l'hémisphère nord et les montagnes tropicales. C'est une famille relativement homogène, caractérisée par son inflorescence typique, l'ombelle. Il s'agit de plantes herbacées, annuelles, bisannuelles ou vivaces, parfois arbustives. Les feuilles sont alternes, composées, rarement simples. Souvent, les pétioles sont élargis à leur base, engainant la tige. La tige est souvent creuse, les fleurs sont réunies en ombelles simples ou composées, munies de bractées appelées involucelles à la base. Elles comptent 5 pétales et 5 étamines et un ovaire biloculaire. Les fruits sont formés de 2 méricarpes accolés à un axe central, le carpophore, se séparant à maturité (**Abedini, 2013**).

La famille des Apiacées contient des plantes alimentaires (la carotte, *Daucus carota L.*), des condiments (le cumin, *Cuminum cyminum L.*), des plantes médicinales (le khella, *Ammi visnaga (L.) Lam.* et le fenouil, *Foeniculum vulgare L.*) ainsi que des plantes toxiques (la grande ciguë, *Conium maculatum L.*) (**Abedini, 2013**).

2. Genre *Ferula*

La flore algérienne comprend 5 espèces de *Ferula* dont 2 sont endémiques (**Quezel et Santa, 1962**). Ce sont des plantes vivaces, à tige mesurant de 1-4 m, creuse, glabre, robuste, et à racines épaisses. Les feuilles sont toutes composées en lanières linéaires.

Les fleurs sont jaunes, en ombelles à 5-40 rayons, les latérales plus petites que la centrale et souvent stériles et à involucelle nulle ou à plusieurs folioles. Le calice a 5 dents ; les pétales sont ovales, acuminés, entiers, à pointe dressée ou courbée en dedans, les styles sont étalés ou réfléchis. Le fruit est ovale ou oblong, comprimé par le dos, glabre, entouré d'un rebord plan ; les méricarpes sont à 5 côtes, les trois dorsales filiformes, égales, les deux marginales dilatées en aile aplanie; les vallécules sont à plusieurs bandelettes, le carpophore est libre, bifide et les graines sont à face commissurale plane (**Coste et al., 1998**).

Les plantes du genre *Ferula L.* croissent souvent dans les régions arides. Ce genre comporte environ 150 espèces présentes du bassin méditerranéen jusqu'à l'Asie centrale (**Pimenov et al., 1993**).

De nombreuses espèces de *Ferula* sont connues depuis l'antiquité en tant que sources de gommés-oléorésines (des sécrétions obtenues par entailles répétées de la partie supérieure des racines) surtout le galbanum et l'ase fétide. L'ase fétide est réputée carminative et spasmolytique (Jean, 2009).

3. *Ferula assa-foetida*

- Nom scientifique : *Ferula assa-foetida*
- Nom vernaculaires : *Assa-foetida*
- En arabe : El haltith (الحلتيت), El anjudan (انجدان)
- En algérien : El hantit.
- En français : Ase fétide, asa-foetida, ase puante, merde du diable.
- En anglais : Asafetida, stinking assa, devil's dung.
- En hindi : Hing (Eskandari et Mohsen, 2016).



Figure 1: *Ferula assa-foetida* (Bahrami, 2013)

4. Position systématique

Selon QUEZEL et SANTA (1963), la position systématique de *Ferula assa-foetida* est donnée comme suit:

Tableau 1: Position systématique de plantes *Ferula assa-foetida* (QUEZEL et SANTA,1963)

Règne	Plante
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	Ferula
Espèce	<i>Ferula assa-foetida</i>

5. Description morphologique

Ferula assa-foetida est une plante médicinale de la famille des Apiacées. La plante est une plante herbacée vivace avec une odeur désagréable et est souvent considérée comme la principale source de résine oléo-gomme (OGR, un exsudat laiteux de certaines plantes qui coagule à l'air) qui a une odeur sulfureuse caractéristique et un goût amer (**Golmohammadi et al, 2016**)

C'est une plante qui atteint une hauteur de 12 pieds à l'état sauvage avec une masse circulaire de 30 à 40 cm de feuilles. Les feuilles de la tige ont de larges pétioles de gainage. Les tiges florifères ont une hauteur de 2,5-3 m et une épaisseur de 10 m et sont creuses. Ces tiges florifères ont un nombre de canaux schizogénèse dans le cortex contenant des gommés résineuses. Les fleurs sont petites et sales, de couleur jaune, produites en grosses ombelles composées. Les fruits de cette plante sont ovales, minces, plats, de couleur brun rougeâtre et contiennent une substance laiteuse. Les racines sont épaisses, massives et pulpeuses. L'odeur nauséabonde provient de la résine comme la gomme extraite des tiges et des racines (**Kareparamban et al, 2012**).

6. Répartition géographique

L'espèce *Ferula assa-foetida* est originaire d'Afghanistan et d'Iran. Il a été distribué dans toute la région méditerranéenne en Asie centrale. En Inde, il a été largement cultivé au Cachemire et dans certaines parties du Pendjab (Kareparamban et al, 2012).

7. Composition chimique

Assa-foetida riche en gomme (galactane) 25 %, résine 62 % (acide férulique libre, asaresinotanol, ester férulique de asaresi notanol, soluble à l'éther), essence, contenant des sulfates organiques et pinène (Khalighi-Sigaroodi et al., 2005)

8. Utilisations

De nombreuses espèces de *Ferula* sont connues depuis l'antiquité en tant que sources de gommes-oléorésines (des sécrétions obtenues par entailles répétées de la partie supérieure des racines) surtout le galbanum et l'ase fétide. L'ase fétide est réputée carminative et spasmolytique (**Bruneton, 2009**). Elle est rarement toxique.

Ferula assa-foetida est une source d'ase fétide, utilisée comme arôme alimentaire. Cette plante possède des propriétés expectorantes, carminatives, laxatives, stimulantes, antispasmodiques et anthelminthiques. Par ailleurs, elle est traditionnellement utilisée pour le traitement de diverses maladies telles que la grippe, l'asthme, l'épilepsie, les flatulences, et les parasitoses intestinales (**Abedini, 2013**).

De récentes études pharmacologiques et biologiques de la gomme-oléorésine ont également montré plusieurs activités, comme anti-oxydante, antivirale, antifongique, chimio-préventive, antidiabétique, antispasmodique, hypotensive, et molluscicide (**Abedini, 2013**).

Anti flatulent: *Assa-foetida* réduit la croissance de la microflore indigène dans l'intestin, ce qui réduit la flatulence *assa-foetida* est utilisé comme médicament contre les flatulences et la constipation. (**Hemla et al, 2009**).

Lutte contre la grippe: *Assa-foetida* a été utilisé en 1918 pour lutter contre la pandémie de grippe espagnole. En 2009, les chercheurs ont signalé que les racines d'*Assa-foetida* produisent des composés antiviraux naturels qui ont démontré leur puissance contre le virus H1N1 in vitro et ont conclu que «les coumarines sesquiterpéniques de fassa-foetida peut servir de composés prometteurs pour le développement de nouveaux médicaments contre l'infection virale A (H1N1) » (**Mohamed et al, 2009**).

Antimicrobien: *Assa-foetida* a un large éventail d'utilisations en médecine traditionnelle comme un antimicrobien, avec des utilisations bien documentées pour le traitement de la bronchite chronique et la coqueluche, ainsi que la réduction des flatulences(**Srinivasan,2005**).

Un contraceptif/ abortif: *Assa-foetida* a également été signalé avoir une activité contraceptive/ abortif. Il est apparenté (et considéré comme un substitut inférieur) à l'ancienne espèce *Ferulasilphium* (**John, 1992**).

Antiépileptique: *Assa-foetida* oléo-gomme-résine a été signalé pour être antiépileptique dans Unanime classique, ainsi que la littérature ethnobotanique (**Abdin et al.**). *Assa-foetida* a été utilisé comme une épice et une phytomédecine folklorique pendant des siècles. *Assa-foetida* a une odeur sulfureuse caractéristique et un goût amer. Il est utilisé comme une épice aromatisant dans une variété d'aliments, en particulier en Inde. En outre, les Népalais le consomment régulièrement dans leur alimentation quotidienne, et l'*assa-foetida* a des vertus aphrodisiaques, sédatives et diurétiques (**Golmohammadi et al., 2016**).

Chapitre 02 :

Biologie de *Paramecium sp*

1. Définition

La paramécie est l'un des premiers organismes unicellulaires à avoir été observé au microscope. Depuis lors, sa facilité de culture, sa grande taille (120 μm de longueur en moyenne et 48 μm de largeur environ), la facilité d'observation de ses fonctions cellulaires variées en ont fait un modèle d'étude privilégié pour les biologistes cellulaires. Elle est abondante dans les étangs d'eau douce et appartient au groupe d'organismes appelés protozoaires. La plupart d'entre eux sont microscopiques avec plus de 80 000 espèces différentes identifiées (**Samworth et Morgan, 2000**).

2. Biologie et morphologie

La paramécie est une cellule unique fusiforme, quatre fois plus longue que large, enflée dans sa partie moyenne. Les deux extrémités d'une paramécie sont morphologiquement distinctes, l'extrémité antérieure est émoussée, arrondie alors que l'extrémité postérieure a la forme d'un cône (**Beaumont et Cassier, 1998**).

La paramécie comporte au niveau cortical plus de 4000 cils. Comme tous les ciliés, la paramécie possède deux types de noyaux : Le macronoyau dit noyau somatique qui est transcriptionnellement actif et est responsable de l'expression des gènes durant le cycle végétatif, et deux micronoyaux, dits noyaux germinaux, qui sont transcriptionnellement inactifs et subissent la méiose lors des processus sexuels. Leur cytoplasme limité par une mince cuticule présente une zone périphérique hyaline et visqueuse, cette cuticule résistante, souple et élastique, limite l'amplitude des déformations du corps de la paramécie. Après toute déformation, grâce à la présence de cette différenciation superficielle le corps de la paramécie reprend sa forme initiale (**Beaumont et Cassier, 1998**).

La paramécie présente des fonctions cellulaires diverses au même titre que les métazoaires. En effet, elle possède un système de transport vésiculaire jouant un rôle analogue au système digestif. Une partie des cils assure la prise de nourriture via son appareil oral, en forme d'entonnoir, dans lequel les bactéries vont entrer par endocytose. Après formation de vésicules digestives et dégradation des éléments ingérés par les enzymes qu'elles contiennent, ces vésicules vont être exocytées via le cytoprocte. Afin d'éliminer les déchets liquides et de maintenir la pression osmotique, les paramécies sont également pourvues de deux vacuoles pulsatiles (**Bengueddach, 2016**).



Figure 2: Paramécie sous microscope (Grossissement $\times 40$). (Samworth et Morgan, 2000)

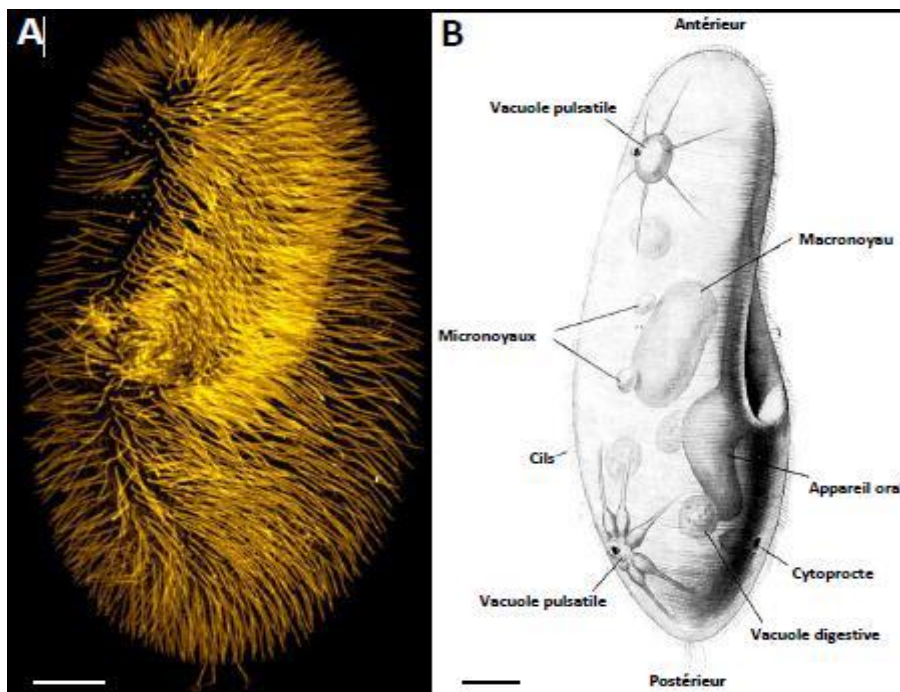


Figure 3: Organisation générale de la paramécie (Bengueddach, 2016). (A) Observation de la région ventrale, marquée avec un anticorps reconnaissant les cils ; (B) Représentation schématique des principaux organites.

3. Classification de la paramécie:

D'après Müller, 1773 (Cudmore et al., 1978), les paramécies appartiennent au :

- ✓ **Règne** : Protista
- ✓ **Embranchement** : Ciliophora
- ✓ **Classe** : Oligohymenophora
- ✓ **Ordre** : Peniculida
- ✓ **Famille** : Parameciidae
- ✓ **Genre** : *Paramecium*

4. Locomotion

La surface extérieure de la cellule est recouverte de plusieurs centaines de minuscules structures ressemblant à des cheveux appelées cils. Ceux-ci agissent comme des rames microscopiques pour pousser à travers l'eau, permettant à l'organisme de nager. La vitesse de déplacement est environ quatre fois sa propre longueur par seconde. Il se déplace si rapidement que les microscopistes doivent ajouter un agent épaississant à l'eau pour la ralentir et l'étudier. En se déplaçant dans l'eau, il tourne sur son axe et de petites particules de débris et de nourriture sont collectées et balayées dans l'œsophage. Si le *Paramecium* rencontre un obstacle, il s'arrête, inverse le battement des cils, nage en arrière, tourne à travers un angle et avance à nouveau sur un parcours légèrement différent (Samworth et Morgan, 2000).

5. Alimentation

L'alimentation chez la paramécie s'effectue selon les étapes suivantes :

- **Capture de la nourriture** : Les cils spéciaux qui couvrent la bouche ont pour rôle de produire un courant d'eau attirant les particules et les proies (débris végétaux, bactéries, algues unicellulaires). Il se forme ainsi, autour des particules, une vacuole digestive qui est attirée dans le cytoplasme (Samworth et Morgan, 2000).
- **Digestion et excrétion**: Dans la vacuole digestive, les aliments sont digérés par des diastases (digestion acide, puis basique). Les produits de la digestion sont ainsi absorbés par le cytoplasme et les débris sont rejetés à l'extérieur de la cellule par exocytose (Samworth et Morgan, 2000).

6. Respiration

Les paramécies sont avides d'oxygène, leur respiration se fait par des échanges gazeux avec l'environnement exclusivement par la surface corporelle car présentant un rapport surface / volume donc surface / masse corporelle élevé (**Wehner et Gehring, 1995**).

1. Reproduction

✚ **Reproduction asexuée** : Les paramécies se multiplient surtout de façon asexuée par division binaire transversale. Cette division débute par celle de l'appareil nucléaire: le micronoyau subit ainsi une mitose et le macronoyau s'étire, s'étrangle et se sépare en deux. Ensuite, les organites se dupliquent puis le cytoplasme s'étrangle : il y a alors séparation des deux cellules filles. Ce rythme de division est rapide (de deux à trois fois par jour pour un individu) (**Purves et al., 2000**).

✚ **Reproduction sexuée** : Il existe aussi une multiplication sexuée appelée conjugaison qui se produit après un assez long temps d'élevage en culture (privation de nourriture). Deux ciliés s'accolent par leur péristome, les cils tombent et les cytoplasmes entre en communication (**Purves et al., 2000**).

Chez *Paramecium tetraurelia*, le processus de conjugaison dure normalement entre 5 et 6 heures à 27-29°C. Exceptionnellement, les cellules peuvent rester attachées deux par deux pour des périodes plus longues à la région du cône paroral. En effet, parfois la connexion cytoplasmique entre conjugants dans la région parorale ne se rompt jamais, et des doublets permanents sont formés (**Purves et al., 2000**).

7. Choix de la paramécie comme modèle biologique:

Les paramécies sont non seulement caractérisées par une organisation complexe mais jouent aussi, un rôle important dans le fonctionnement des écosystèmes d'eau douce. Elles sont, donc, d'excellents bio-indicateurs puisqu'elles présentent de nombreux avantages, à savoir :

- Leur large distribution géographique (**Bennett et al., 1992**), leur abondance de même que leur facilité d'identification (**Bennett et Cabbage, 1992, Marchese et Brinkhurst, 1996**).
- Leur facilité de culture en laboratoire ainsi que leur multiplication rapide (cycle de vie court) (**Dragesco, 1986 ; Beal et Anderson, 1993 ; Kamola, 1995**).

- La paramécie constitue un modèle biologique de choix pour la modélisation des tests de cytotoxicité et l'étude des effets aigus et chroniques des toxiques et éventuellement leur bioaccumulation (**Chapman, 2001**).
- Elles permettent l'étude des mécanismes d'action des xénobiotiques à différents niveaux d'organisation de la cellule (échelles cellulaire, subcellulaire et moléculaire) (**Rouabhi et al., 2006**).
- Leur mobilité grâce à des cils possédant la même structure que ceux des cellules épithéliales respiratoires des mammifères (**Gräf et Stahr, 1999**), d'autant plus que les battements ciliaires chez les mammifères sont parfaitement comparables à ceux de la paramécie, *Tetrahymena*,...etc, (**Berrebbah, 1990**).
- Leur sensibilité en tant que cellules eucaryotes et leur organisation exposent leurs récepteurs à l'environnement externe, les faisant réagir parfaitement à des stimuli environnementaux (**Venkateswara et al., 2006**).
- Toutes ces caractéristiques biologiques font des paramécies un outil pertinent pour la détection et l'évaluation des perturbations environnementales (**Amaroli, 2010**).

Chapitre 03 :

Stress oxydant

1. Stress oxydant

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre les processus biochimiques de production des ERO et ceux qui sont responsables de leur contrôle et l'élimination de ces ERO (Sayre *et al.*, 2005).

A titre d'exemples quelque cas favorisant cet état est:

- L'introduction dans la cellule des radicaux libres ou d'espèces réactives oxygénées (Polluants photochimiques pénétrant l'organisme via le système respiratoire, l'alimentation ou les muqueuses).
- Un défaut du système de protection, par exemple une mutation inactivant une des enzymes du système de protection ou une carence en une des vitamines.
- L'introduction dans la cellule ou dans un organe des molécules hautement réactives, par exemple nanoparticules (très petite et à surface spécifique très développée). Si celles-ci sont nombreuses, les macrophages n'arrivent plus à les traiter et peuvent libérer leurs oxydants dans l'organisme provoquant une réaction inflammatoire exacerbée (Bartosz, 2003).
- Il est potentiellement impliqué dans le développement du vieillissement ou de pathologies associées au vieillissement (maladies cardio-vasculaires et neuro-dégénératives, cancer, diabète, dégénérescence maculaire, asthme...) est un facteur d'inflammation et de mutagenèse, mais il est aussi jouerait un rôle dans la maladie d'Alzheimer (Haleng *et al.*, 2007).

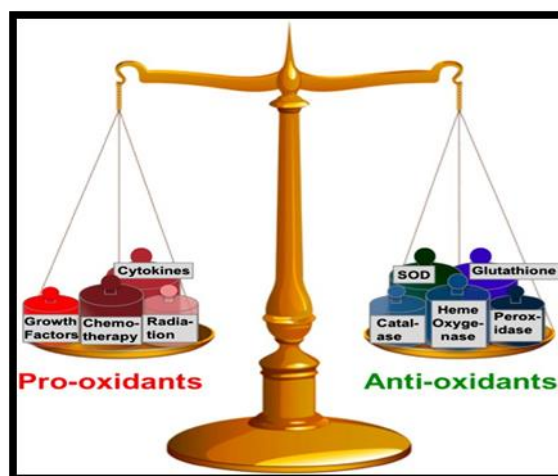


Figure 04: Balance entre les pro-oxydants (ERO) et les antioxydants(Reuter, 2010).

2. Dérivés actifs de l'oxygène

2.1. Définition

Un radical libre se définit comme tout atome, groupe d'atomes ou molécule possédant un électron non apparié (célibataire) sur l'orbitale externe. Cette caractéristique lui confère une réactivité importante : les radicaux libres réagissent avec des molécules plus stables pour capter ou céder leurs électrons, créant ainsi de nouveaux radicaux en initiant des réactions en cascade (**Januels, 2003**).

Sa durée de vie est très courte (quelques millisecondes voir quelque nanosecondes) (**Massart, 2011**). Dans certaines conditions métaboliques, la réduction de l'oxygène (O₂) est incomplète et aboutit à la formation de radicaux libres.

Les EAO incluent les RL et des composés réactifs oxydants non radicalaires (sans électrons libres dans leur couche externe) comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), l'acide hypochloreux (HOCl), et l'ozone (O₃) (**Patrick, 2006**).

Des radicaux oxygénés caractérisés par un électron non apparié (l'anion superoxyde O₂⁻, les radicaux hydroxyles HO[•], peroxyde ROO[•], alkoxyde RO[•]) (**Januels, 2003**).

Ces espèces oxygénées sont formées en faible quantité dans les conditions Physiologiques (au sein de la chaîne respiratoire mitochondriale, lors de réactions Inflammatoires) mais elles sont éliminées rapidement par le système antioxydant cellulaire (**Januels, 2003**), mais, l'état d'un déséquilibre peut se produire quand le système de défense antioxydant est surmené par l'augmentation des oxydants ou lorsque les défenses sont affaiblies par une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants (**Kirschvink et al 2008**).

2.2. Formation des dérivés actifs de l'oxygène

La principale source d'ERO est la chaîne de transfert d'électron des mitochondries; la production d'oxydant par les neutrophiles et les macrophages est également une source importante qui dépend de l'activité enzymatique de la NADPH-oxydase pendant l'emballage oxydatif «respiratory burst» des cellules inflammatoires (**Lamprecht et al 2004**). D'autres sources dépendent d'enzymes comme les xanthines oxydases, les oxydases membranaires, les synthétases de l'oxyde nitrique, qui produisent physiologiquement des oxydants (**Radak et al., 1995**).

La présence de pro-oxydants peut transformer les oxydants en des formes plus réactives, comme par exemple, le fer qui favorise la transformation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en radical hydroxyle (HO•) (Kirschvink *et al* 2008).

Dans les mitochondries qui produisent en particulier des radicaux superoxydes (•O₂⁻) et des H₂O₂, la présence simultanée d'AGPI, de protéines, d'oxygène, d'électrons, et de fer, font des membranes mitochondriales un site particulièrement sensible aux attaques radicalaires (Massart, 2011). L'oxygène est l'accepteur final d'électron en provenance des substrats énergétiques, sa réduction ne peut se faire qu'un électron à la fois (réduction univalente) et de ce fait il résulte une production inévitable d'intermédiaires très réactifs. Il est estimé que 2 à 5% de l'oxygène consommé est transformé en •O₂⁻ (Massart, 2011).

3. Cibles des dérivés actifs de l'oxygène

3.1. Cibles lipidiques

L'oxydation des lipides ou peroxydation lipidique, correspond à la détérioration oxydative de doubles liaisons d'acides gras insaturés (AGI), dans des esters de glycérol (tissu adipeux), de phospholipides (membranes), ou de cholestérol (Valko *et al.*, 2007).

Les acides gras polyinsaturés sont les cibles privilégiées des ROS radicalaires en raison de leurs hydrogènes bis-allyliques facilement oxydables. Plus l'acide gras est insaturé et plus il est susceptible d'être peroxydé, c'est à dire dégradé par un processus oxydant non enzymatique. (Valko *et al.*, 2007).

3.1.1. Peroxydation non enzymatique

Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires organisées en trois phases successives:

L'initiation, la propagation et la terminaison (Halliwell *et al.*, 1989). La phase d'initiation consiste en la création d'un radical d'acide gras R à partir l'attaque par un RL d'un des groupes méthylène (CH₂⁻) de l'acide gras adjacent à une double liaison par soustraction d'un atome d'hydrogène (H.). Cette déshydrogénation peut être provoquée par un initiateur radicalaire tel que HO• ou HOO• (Clarkson *et al.*, 2000).

Le radical lipidique R. subit ensuite un réarrangement moléculaire pour donner un radical avec une structure de diène conjugué, plus stable, qui peut réagir avec une molécule d'O₂ et

former un radical peroxyde ($\text{ROO}\cdot$). Ce radical est suffisamment réactif pour arracher à nouveau, un H. à un acide gras polyinsaturé voisin, propageant ainsi la réaction.

L'hydroperoxyde lipidique (ROOH) formé peut être oxydé en présence de Fe^{2+} ou Cu^{2+} et entraîner la formation d'alcanes et d'aldéhydes. La réaction en chaîne peut être heureusement interrompue (phase de terminaison) par l'association de deux radicaux libres et la formation d'un composé stable ou le plus souvent par la réaction du radical avec une molécule antioxydante (**Januels, 2003**).

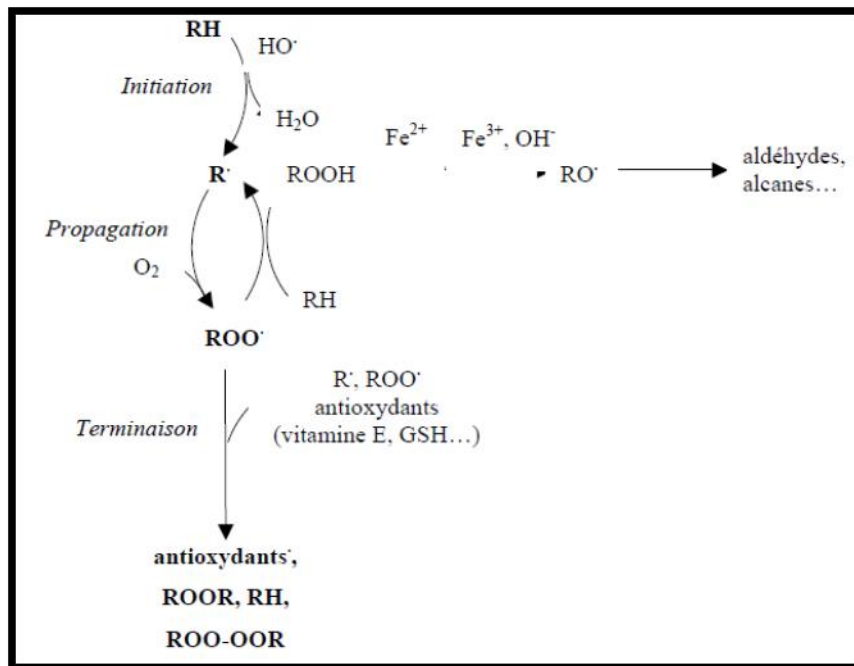


Figure 05: La peroxydation lipidique non enzymatique (Januels, 2003)

3.1.2. Conséquences de la peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique spontanée s'avère toujours néfaste. Dans les conditions physiologiques normales, elle reflète la toxicité de l'oxygène et a plusieurs conséquences:

- La présence d'un groupement peroxyde perturbe les interactions hydrophobes lipides/lipides et lipides/protéines, ceci conduit à des altérations structurales des membranes et des lipoprotéines.
- La fluidité des membranes est diminuée et la perméabilité est augmentée, des enzymes et des récepteurs membranaires sont susceptibles d'être inactivés.

- Les hydroperoxydes lipidiques sont à leur tour la source de radicaux libres qui peuvent induire des modifications secondaires des autres membranes et/ou des constituants des lipoprotéines (**Kuhn et al., 2002**).
- Ceci met en péril l'intégrité des organites et/ou de la cellule et peut conduire à une lyse des organites comme de la cellule.

3.2. Cibles non lipidiques

La production excessive de radicaux libres est responsable de lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des glucides), mais aussi de lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des produits libérés, notamment lors de l'oxydation des lipides. (**Valko et al., 2007**).

3.2.1. L'oxydation des sucres

Les sucres sont attaqués par les ERO (H_2O_2 , $\bullet O_2^-$, $\bullet OH$ ou des radicaux peroxydes d'AG), avec abstraction d'hydrogène au niveau d'une des liaisons CH-OH. Le radical alkyles ($\bullet C-OH$) ainsi formé se combine immédiatement avec de l'oxygène pour former un carbonyle ($C=O$) et expulser un radical hydroperoxyde ($\bullet OOH$). L'opération se prolonge jusqu'à former un composé dicarbonylé. Par auto-oxydation (RL), des sucres comme le glucose forment des composés dicarbonylés (contenant deux $C=O$), dont les plus connus sont les glyoxal et les glycolaldéhydes, qui pourront se lier à des protéines par réaction de Maillard et altérer les propriétés chimiques de celles-ci. Ceci a été démontré chez des diabétiques et a été corrélé avec la sévérité de la maladie au travers des protéines glycosylées. La glyco-oxydation des sucres et la glycation des protéines a également été mise en évidence dans les agglomérats de protéines caractéristiques de certaines maladies neurodégénératives. (**Massart, 2011**).

3.2.2. L'oxydation des protéines

A cause de leur abondance dans l'organisme, les protéines sont une cible importante des ERO. Il a été estimé que les protéines pouvaient piéger la majorité des ERO générés (50–75%). Leur oxydation affecte la fonction des protéines qui peuvent se fragmenter ou former des agglomérats les rendant susceptibles à la protéolyse, et résulte en la formation de protéines carbonylées (PC) dont l'accumulation peut être dosée comme témoin de l'oxydation (**Clarkson et al., 2000**). Suivant leur nature les acides aminés subiront des attaques radicalaires présentant des successions de réactions différentes. Toutefois l'oxydation des acides aminés est similaire à celle des sucres et implique une attaque radicalaire

($\text{LOO}\cdot \rightarrow \text{LOOH}$, ou autre) sur un des groupes méthyle lié à un atome d'azote. Le radical d'acide aminé obtenu réagira avec l'oxygène pour former un composé avec expulsion d'un radical peroxyde d'hydrogène ou d'un peroxyde d'hydrogène, le composé obtenu étant ensuite transformé en un aldéhyde (Spiteller, 2006).

3.2.3. Oxydation de l'ADN

Les ADN nucléaire et mitochondrial constituent une cible cellulaire importante. Les attaques radicalaires au niveau des désoxyriboses ou des bases puriques et pyrimidiques peuvent conduire à leur oxydation ainsi qu'à des coupures mono- ou double-brin de l'ADN, responsables éventuellement de mutations pouvant aboutir à la mort cellulaire (Imlay, 1988).

De puissants systèmes de réparation (glycosylases, endonucléases) permettent d'assurer dans la plupart des cas la conservation du génome (Januels, 2003).

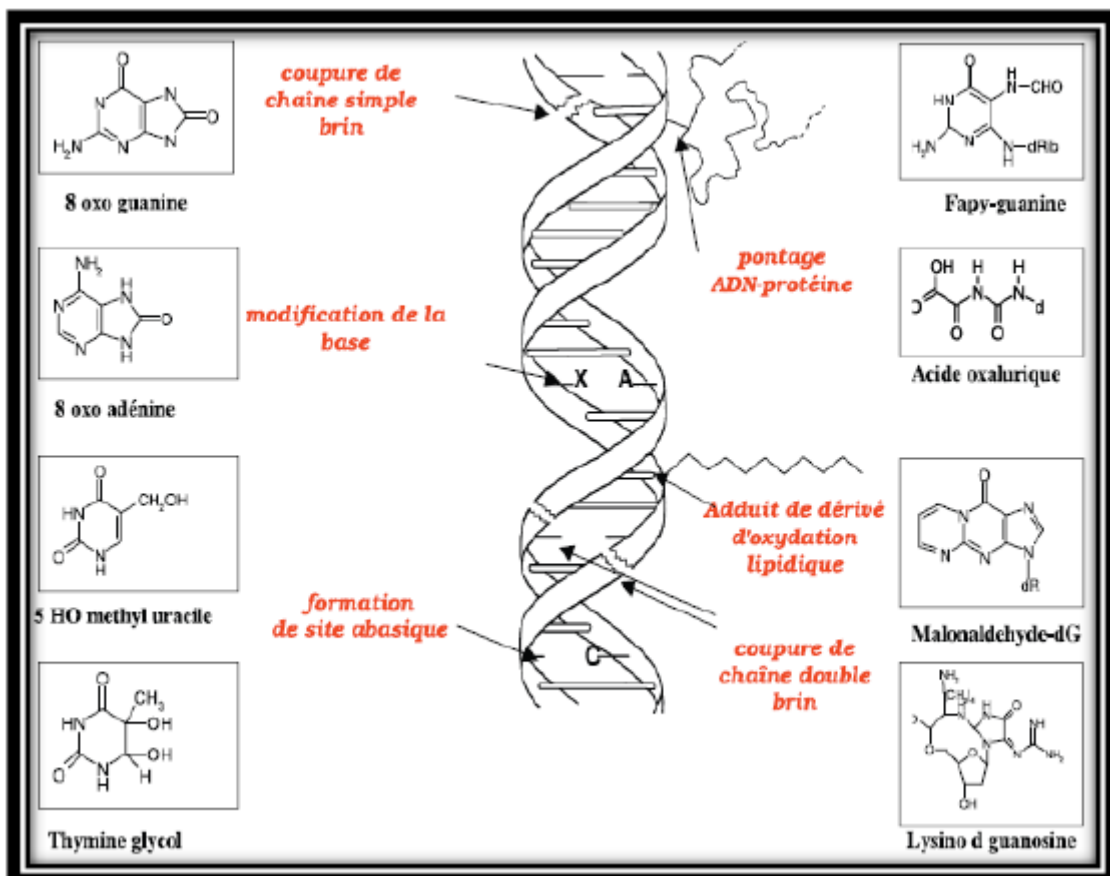


Figure 06: Principales classes de dommages de l'ADN due au stress oxydatif (Favier 2003)

4. Système de défense (Antioxydants)

Les antioxydants sont des substances qui inhibent ou ralentissent l'oxydation d'un substrat. Ils sont présents sous de nombreuses formes et peuvent intervenir en prévention de la formation des radicaux libres, aussi bien que pour participer à leur élimination (antioxydants primaires et secondaires). Pour se protéger du stress oxydant, les organismes ont développé un arsenal d'antioxydants (Fetoni et al., 2019). Il existe deux classes d'antioxydants : les endogènes et les exogènes (Sáez and Están-Capell, 2017).

Les antioxydants endogènes sont principalement les enzymes superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase dont les mécanismes sont développés plus haut. La deuxième partie permet d'appréhender les antioxydants exogènes qui sont, par définition, apportés de l'extérieur par exemple par l'alimentation. **Figure 7** représente la coopération des différents enzymes antioxydants (Baudin, 2020).

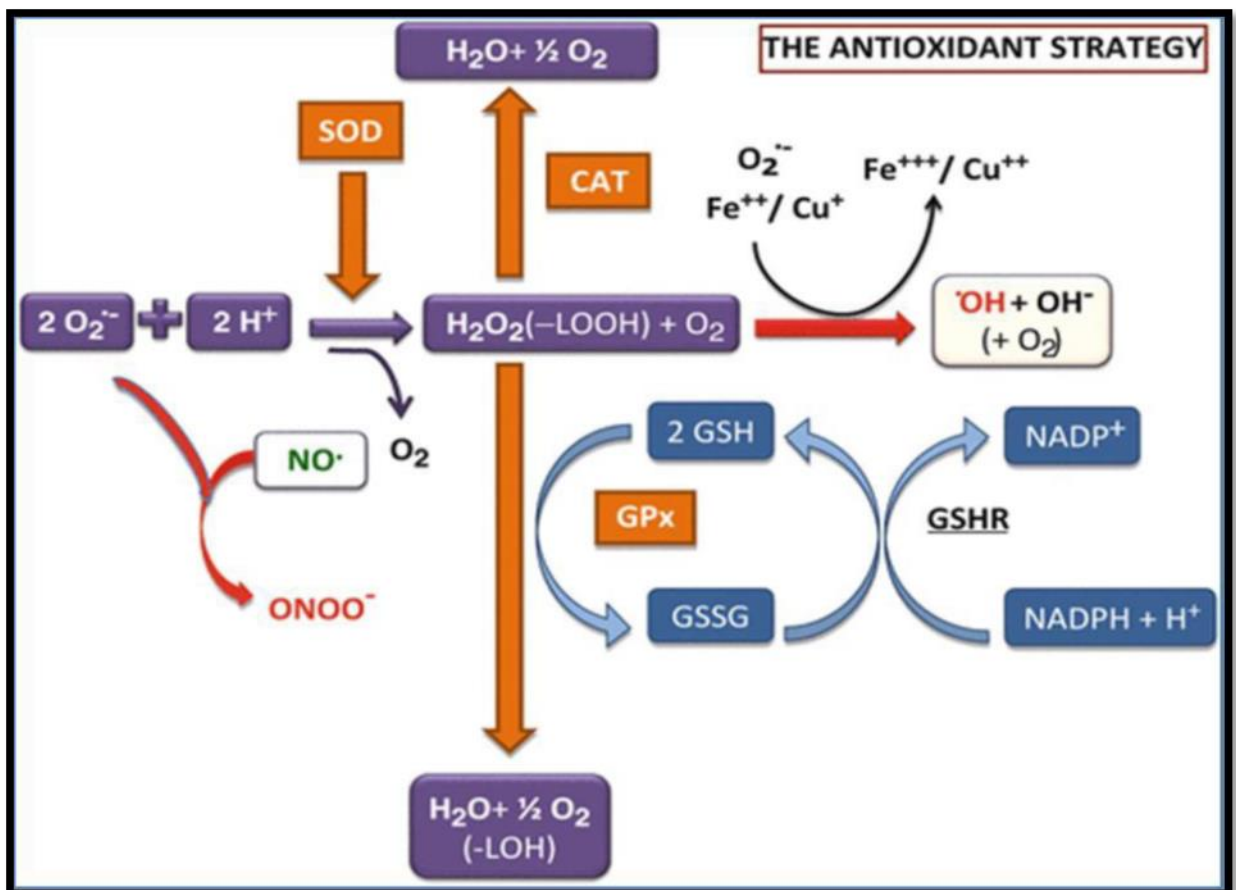


Figure 07: Les principales enzymes antioxydants (Sáez and Están-Capell, 2017).

4.1. Antioxydants endogènes

Nous verrons ici les principales enzymes permettant de lutter contre le stress oxydant.

4.1.1. Super oxydase dismutase (SOD)

Il s'agit d'une des premières lignes de défense contre les radicaux libres est l'un des antioxydants enzymatiques intracellulaires les plus efficaces. Le SOD accélère la dismutation de ($O_2\cdot$) en O_2 et H_2O_2 . Pour cette raison, cette enzyme représente une partie importante du système de défense contre les radicaux libres. Les différents isoformes se distinguent également par leur localisation cellulaire (**Favier, 2003**):

Les SOD à manganèse situées dans la mitochondrie (Mn-SOD), les SOD à cuivre-zinc (Cu, ZnSOD) retrouvées dans le cytoplasme et les SOD extracellulaires (EC-SOD) localisées dans les fluides extracellulaires (**Favier, 2003, Migdal and Serres, 2011**).

4.1.2. Catalase (CAT)

Les catalases sont des enzymes tétramériques chaque sous unité comporte un groupement ferriprotophyrine dans son site actif avec un atome de fer à l'état Fe^{3+} et une molécule de NADPH (**Delattre et al., 2005**). La catalase est localisée principalement dans les peroxysomes (**Bonnefont- Rousselot et al., 2003**). Chez l'homme, cette enzyme se produit en abondance dans le corps, avec la plus grande activité dans le foie, suivie par les érythrocytes, puis les poumons (**Ratnam et al., 2006**). La catalase capable d'assurer la dismutation de la H_2O_2 (généralement produit par les SOD) en eau et oxygène moléculaire (**Baudin, 2020**). La catalase est une enzyme dépendante du fer, qui entre en compétition avec la GSH-Px pour l' H_2O_2 , son utilisation devenant importante quand les quantités d' H_2O_2 sont élevées (**Finaud et al., 2006**).

4.1.3. Glutathion réduit

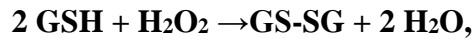
Le glutathion réduit (GSH) est la principale molécule sulfhydrique responsable de la métabolisation et l'élimination des xénobiotiques et protège les cellules contre le stress oxydatif. Le GSH, trouvé dans toutes les cellules humaines, est le thiol le plus abondant (**Fang, 2004**). Le GSH est bio synthétisé dans le corps par deux enzymes spécifiques, la γ - L- glutamyle-L-cystéine synthétase et glutathion synthétase. Le GSH est considérée comme un bon nucléophile en raison de la forte densité des électrons sur l'atome de soufre, qui rend GSH

fortement polarisable. Certains métabolites des médicaments peuvent être conjugués au GSH via le GST (Favier, 2003; Bhattacharyya et al., 2014).

4.1.4. Glutathion peroxydases (GPX)

Les glutathion peroxydases (X) sont formées de quatre sous-unités. Chacune d'entre elles contient une cystéine dont le soufre du groupement thiol est remplacé par un atome de sélénium : cette cystéine est donc une sélénocystéine (Baudin, 2020).

Selon leur localisation cellulaire on distingue la GPX cytosolique, la GPX plasmatique et la GPX membranaire (Zitka et al., 2012). La GPX intervient dans un système bi enzymatique, où, combinée à la glutathion réductase (GR), et à l'aide du glutathion réduit (GSH), elle réduit les peroxydes (H₂O₂ et ROOH), selon la réaction:



GS-SG étant le glutathion oxydé. Le mécanisme réactionnel implique la formation d'un pont disulfure entre deux cystéines du glutathion (Vamecq et al., 2004).

4.1.5. Glutathion réductase (GR)

La GR, quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG grâce au NADPH qui est utilisé comme donneur d'électrons. Le NADPH est fourni par la voie des pentoses-phosphates, nécessitant l'activité de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (Baudin, 2020). La GR réduit les disulfures GSSG et reconstitue le stock de GSH, pour maintenir l'environnement cellulaire réduit et contrôle de l'état d'oxydoréduction du GSH (Hellou et al., 2012). La GR est très élevée dans les organes de détoxification tels que le foie, les reins et les intestins (Aouacheri et al., 2009).

4.1.6. Glutathion -S- transférase (GST)

Les GST sont des familles d'enzymes multifonctionnelles qui jouent des rôles importants. L'importance des GST dans les organismes vivants a été mise en surbrillance pour les défenses contre le stress oxydatif induit par les xénobiotiques. Réaction de désintoxication induite par la conjugaison (Cummins et al., 2011). La GST a également une action indirecte sur la détoxification des ERO puisqu'elle permet le transport du GSH vers les compartiments cellulaires subissant des dommages oxydatifs. Elle permet la liaison du GSH à certains

xénobiotiques ainsi qu'aux aldéhydes issus de la peroxydation lipidique. La GST a donc un rôle de transport inter membranaire, de liaison et de détoxification des cellules (**Tan et al., 1986**). Avec la GR et la GPX, la GST joue un rôle central dans la détoxification des ROS par le GSH. Le GST a la capacité de conjuguer une molécule de glutathion à un composé possédant un centre électrophile issu du métabolisme des xénobiotiques (tel que l'aflatoxine B1, le benzo (a) pyrène et le paracétamol) (**Deavall et al., 2012**).

4.2. Antioxydants exogènes

Ce sont ceux que nous consommons tous les jours dans notre régime alimentaire, notamment ceux contenus dans les fruits et légumes.

4.2.1. Vitamine E et C

La vitamine E est une molécule antioxydante liposoluble la plus abondante de notre organisme. Elle est présente dans les membranes cellulaires et circule dans le sang liée aux lipoprotéines. Elle est chargée de neutraliser les radicaux libres en excès, et agit de deux façons différentes, soit en piégeant directement les ERO, soit en régulant à la hausse les enzymes antioxydants (**Favier, 2003**). La principale source de la vitamine E est nutritionnelle (céréales, huiles végétales, poisson...). La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identiques à celle de α -tocophérol. La vitamine E interrompt la chaîne de propagation radicalaire dans les membranes en limitant la peroxydation des acides gras polyinsaturés (**Sahnoun et al., 1997**). La vitamine E peut arrêter la propagation de la peroxydation lipidique en réparant le radical peroxyde (AGPIOO[•]) par la formation d'hydro peroxyde (AGPI-OOH). Dans cette réaction de piégeage, la vitamine E devient à son tour radicalaire et la vitamine C la régénère (**Traber et Stevens, 2011 ; Zhou et al., 2015**). La vitamine C est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles présent dans les fluides intra- et extracellulaires (compartiments hydrophiles). Cependant, un effet peroxydant a été constaté en présence de Fe³⁺. Alors que la plupart des mammifères sont capables de la synthétiser. Les animaux dépourvus de cette capacité de synthèse de la vitamine C doivent donc la puiser dans leur alimentation (**Saidi Merzouk et al., 2020**).

La relation entre ces vitamines (E et C) et les antioxydants endogènes dans la neutralisation des ERO est représenté dans la **Figure 8**

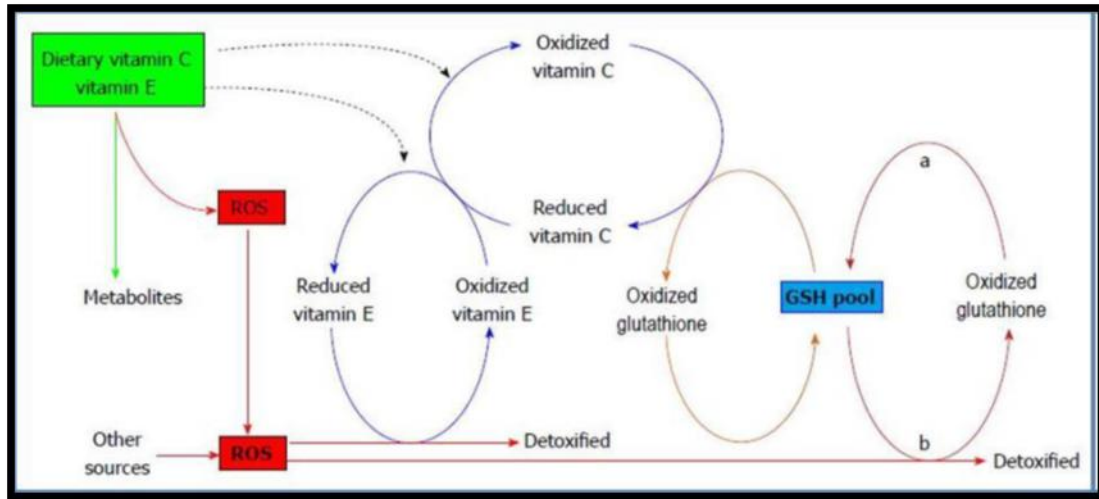


Figure 08: Rôle de la vitamine E et C dans la terminaison de la peroxydation lipidique (Zhou et al., 2015)

4.2.2. Oligoéléments

Les oligo-éléments, ce sont toutes ces molécules indispensables en quantités infimes, à notre organisme. Fer, cuivre, zinc, tour d'horizon de ces éléments et des risques liés à leur carence. Ils peuvent concourir à la lutte contre les radicaux libres de l'oxygène, potentiellement toxiques. Le sélénium agit comme une molécule antioxydante. Sélénium via la glutathion réductase (GR) et d'autres GPX seleno- dépendante contrôle le fonctionnement des substances caractérisées par une activité antioxydant, L'importance biologique essentielle du sélénium est associée à sa présence dans les protéines et enzymes (**Marreiro and Cruz, 2017; Zoidis et al., 2018**).

Le magnésium agit comme un nutriment essentiel pour la vie humaine. Il joue un rôle important dans la régulation des canaux ioniques, la stabilisation de l'ADN, l'activation enzymatique (**Ribeiro et al., 2015**).

Le cuivre est un oligo-élément essentiel jouant un rôle de cofacteur dans de nombreuses réactions enzymatiques. Son homéostasie est très finement régulée à travers des mécanismes complexes étant donné qu'une quantité excessive de sa forme libre est toxique. Le foie est l'organe central de l'homéostasie du cuivre dans le corps humain, permettant son stockage, sa redistribution et l'excrétion de l'excès dans la bile. Lorsque sa concentration est élevée devenir pro-oxydant et favorise la formation des ERO (**Favier, 2003**).

4.2.3. Polyphénols

Les composés phénoliques présents dans les fruits, légumes et plantes médicinales peuvent être séparés en plusieurs classes. Les polyphénols jouent un grand rôle dans la qualité nutritive et hygiénique des aliments. Ils interviennent également dans la digestibilité des aliments, dans l'utilisation physiologique des protéines. Les décès dus aux infarctus du myocarde ou par athérosclérose coronarienne sont associés au taux élevé des cholestérols de type LDL circulant dans le sang. Les antioxydants présents dans le raisin, le thé ou les fruits sont souvent de type phénolique. (Williamson, 2017).

Partie II.

Partie Expérimentale

Chapitre 01:

Matériels et Méthodes

C'est au laboratoire du département de Biologie Cellulaire et Moléculaire de l'université de Echahid Hamma Lakhdar EL-OUED entre janvier 2024 et février 2024, que nous avons fait une étude prospective, portant sur des paramécies traitées par la gomme résine de *Ferula assa-foetida* pour étudier l'effet de cette dernière sur quelques biomarqueurs de stress (MDA, et l'activité CAT).

1. Matériels

1.1. Matériels végétal

Le matériel végétal dans cette étude est l'extrait gomme résine de la racine de *Ferula assa-foetida* acheté du marché local d'EL-OUED, a été prélevé en pratiquant des incisions dans les racines de la plante, où il se présente sous la forme d'un liquide gommeux de couleur rouge qui se solidifie avec le temps et prend forme comme dans **Figure 09**.



Figure 9: Mucilage sécrété par les racines de *Ferula assa-foetida* (Originale, 2024)

1.2. Matériels animal

Le matériel animal utilisé dans notre étude est un micro-organisme uni-cellulaire d'eau douce, c'est le protiste cilié : *Paramecium sp.* La facilité d'observation de ses fonctions cellulaires variées ont fait des paramécies un modèle d'étude privilégié pour les biologistes (Boulassel, 2014). Les paramécies présentent aussi des caractères physiologiques comparables à celle des cellules épithéliales des êtres humains, pour la modélisation des tests de cytotoxicité, ils constituent un excellent modèle moderne (**Van Houten, 2023**).

1.3. Produits chimiques

Les produits chimiques utilisés dans notre travail de laboratoire peuvent être clarifiés comme suit : Solution nutritive, Levure, Eau distillée, L'eau oxygénée, l'acide thiobarbiturique (TBA), le malondialdéhyde (MDA), tris-HCl, réactif coloration bleu brillant de Coomassie (BBC), éthanol et acide orthophosphorique, et bien d'autres.

1.4. Verreries de laboratoire

La verrerie de laboratoire la plus importante utilisée dans notre travail appliqué est la suivante: Récipient en verre, micropipette, bécher, tubes...

1.5. Appareils

Les appareils utilisés dans notre travail de laboratoire peuvent être clarifiés comme suit: Etuve, Hotplate stirrer, Microscope, Spectrophotomètre, centrifuges...

2. Méthodes

2.1. Préparation des colonies de *Paramecium sp*

Pour préparer un milieu approprié à la croissance de Culture mixte des paramécies nous avons suivi la méthode de **Beaumont et cassier (1998)**, comme suit :

On met la paille dans un récipient en verre, on la remplit d'eau douce (Figure), et on la laisse dans un endroit à atmosphère modérée (le laboratoire) pendant 5 à 6 jours. Plus tard un voile bactérien apparaît sur la solution, on observe au microscope optique les paramécies et sans coloration, dont ces derniers se nourrissent au dépend du voile bactérien. En fin récupérer dans un tube à essai contenant 1 ml de milieu de culture et 1 ml de solution contenant des paramécies, et laisser incuber dans une étuve à une température de $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 2 à 3 jours.



Figure 10 Paille dans un récipient en verre (Originale, 2024)

2.2. Préparation du milieu de culture

Les étapes les plus importantes de la préparation du substrat de plantation peuvent être résumées comme suit:

- ✓ Selon la méthode **d’Azzouz *et al.* (2011)** le milieu de culture est constitué de : 2g de foin, 2g de blé, 2g de laitue, 1g de peau de pomme de terre, 1g de peau de concombre, 0.5g de cacahuètes.
- ✓ On ajoute 1,5 litre d’eau distillée et on laisse bouillir pendant 15min, Ensuite, nous l’avons filtré (à l’aide d’une machine à filtrer) et y avons ajouté de la levure pendant qu’il était tiède.
- ✓ Après cela, nous avons dilué la solution du milieu de culture pour les paramécies afin d’obtenir une croissance optimale (4 ml milieu de culture + 6 ml l’eau distillée).
- ✓ Dans des tubes, nous avons placé 1 ml de *Paramecium sp* et 2 ml de milieu de culture dilué (à l’aide de micropipette) et nous l’avons laissé dans l’incubateur pendant 3 jours à une température de 25,5.



Figure 11: Colonie de *Paramecium sp* au microscope électronique (Original, 2024)

2.3. Protocol expérimental

Les étapes de préparation du processeur peuvent être résumées comme suit:

- ✚ Nous avons utilisé 5 bêcher : 4 bêcher nous y avons mélangé la poudre de la gomme résine *Ferula assa-foetida* avec l'eau distillée, et 1 bêcher de l'eau distillée (témoin):
 - ✓ T1:10 ml d'eau distillée
 - ✓ C1: 5 mg de la gomme résine *Ferula assa-foetida* + 10 ml eau distillée
 - ✓ C2: 10 mg de la gomme résine *Ferula assa-foetida* + 10 ml eau distillée
 - ✓ C3 : 20 mg de la gomme résine *Ferula assa-foetida* + 10 ml eau distillée
 - ✓ C4 : 30 mg de la gomme résine *Ferula assa-foetida* + 10 ml eau distillée
- ✚ Nous avons préparé 15 tubes de laboratoire en verre (pour chaque dosage MDA/ CAT/ Protéines total) et nous avons mis dans chaque tube 1 ml de solution de paramécie + 1 ml de chaque concentrations (la solution *Ferula assa-foetida* que nous avons préparé ultérieurement).

- ✚ après 3 heures de traitement, nous avons réalisé les dosages (les tests sont répétés 3 fois).



Figure 12: Image montrant la poudre de la gomme résine de *Ferula assa-foetida* (Original, 2024)

2.4. Dosage des protéines totales

Les protéines sont quantifiées selon la méthode de **Bradford (1976)**, qui consiste à additionnelle une fraction aliquote de 10ul du surnageant ou de la gamme étalon à 4 ml du réactif coloration bleu brillant de Coomassie (BBC) G250 [100mg BBC, 50 ml éthanol 95°C, agitation pendant 2 heures, 100ml acide orthophosphorique 85%, q.s.p 1000 ml eau distillée].

La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 595nm au spectrophotomètre visible (JENWAY 6300). La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une protéine standard, l'albumine sérum de boeuf (BSA) titrant 1mg/ml [1mg BSA, 1ml eau distillée].

2.5. Dosage du malondialdéhyde

- ✚ Le malondialdéhyde (MDA) est dosé selon la méthode de **Draper & Hadley (1990)** basée sur la mesure colorimétrique de la réaction entre l'acide thiobarbiturique (TBA) et le malondialdéhyde (MDA) donnant un produit rouge brun dont l'intensité de la coloration est mesurée à une longueur d'onde de 532 nm .
- ✚ Les fragments des deux organes (glande digestive et rein) sont broyés aux ultrasons dans 1ml de tampon tris-HCl (50mM, PH7,5) [1,5137 g tris, 0,0730 g EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique), 42,78 g sucrose, 250 ml eau distillée].

- ✚ Une fois l'homogénéisation réalisée, une centrifugation est effectuée pendant 10 mn à 10000 tours/mn et le surnageant récupéré servira au dosage du MDA.
- ✚ Le dosage est réalisé avec 500 ul du surnageant additionnés de 2,5 ml de TCA [100 g TCA, 1000 ml eau distillée]. Après chauffage au bain marie à 100°C pendant 15 mn et refroidissement dans de la glace, une centrifugation est effectuée à 10000 tours /mn pendant 10 mn. Une fraction aliquote de 2 ml du surnageant est alors prélevée à laquelle on ajoute 1 ml de TBA [6,7g TBA, 1000 ml eau distillée]. Après un second chauffage (100°C, 15 mn) et refroidissement, 1,5 ml de butanol sont rajoutés .
- ✚ Après agitation, une dernière centrifugation (10000 tours /mn, 10 mn) est réalisée et le surnageant constitué de 1ml de butanol renfermant les complexes TBA /MDA est récupéré et une lecture de absorbances est effectuée à 532nm contre un blanc où du tampon tris-HCl remplace le surnageant .
- ✚ Le taux du MDA est déterminée selon la formule suivante :

$$X = DO \div 156 \times V_t \div V_s / \text{mg de protéine}$$

- ✓ X: micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines (u M/mg de protéines).
- ✓ DO: la densité optique après hydrolyse du substrat .
- ✓ 156: coefficient d'extinction molaire du TBA .
- ✓ Vt: Volume total dans la cuve: 1ml [volume total du butanol récupéré renfermant les complexes TBA /MDA.]
- ✓ Vs: Volume du surnageant utilisé dans le dosage: 0,5ml .
- ✓ mg de protéines: quantité de protéines exprimée en mg.

2.6. Dosage de l'activité catalase

- ✚ La mesure de l'activité catalase (CAT) est déterminée selon la méthode de **(Regoli et Principato, 1995)** dont le principe repose la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à une longueur d'onde de 240 nm .

- ✚ Les fragments des deux organes (glande digestive et rein) sont broyés aux ultrasons dans 1ml de tampon phosphate (0,1M, PH 7,5). L'homogénat est centrifugé à 15000 g pendant 10mn et le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme .
- ✚ Pour un volume final de 1ml, le mélange réactionnel contient: 20ul de surnageant 200ul de peroxyde d'hydrogène H₂O₂ (500 mM) et 780 ul de tampon phosphate (0,1M, PH=7,5).
- ✚ la réaction est déclenchée par l'addition d'eau oxygénée et La décroissance de l'absorbance est enregistrée pendant une minutes (spectrophotomètre Jenway 6300) Pour une longueur d'onde de 240 nm et un coefficient d'extinction linéique molaire $\epsilon=40M^{-1}.Cm^{-1}$ à 240 nm à une température d'incubation de 25°C .
- ✚ L'activité catalase (CAT) dans est exprimée en umol d'H₂O₂ par minute et par mg de protéines
- ✚ Les résultats sont exprimés en umol de H₂O₂ consommées par minute, ce qui correspond à 1U de catalase selon la formule suivante:

$$X(\text{u mol / m n/mg prot}) = \Delta DO \times 10 \div (\epsilon \times L \times 0,004 \times 1 \times 0,05 \text{ mg de protéine})$$

- ✓ X=u moles de H₂O₂ consommées par minute et par mg de protéines
- ✓ ΔDO =différence de la densité optique après hydrolyse du substrat .
- ✓ ϵ =Le coefficient d'extinction est de 0,004mM⁻¹.cm⁻¹
- ✓ L=Longueur de la cuve utilisée (1cm).
- ✓ Mg de protéines: quantité de protéines exprimée en mg.

2.7. Etude statistique:

- ✚ Les résultats obtenus ont été exprimé par la moyenne de trois répétitions pour chaque groupe (T, C1, C2, C3, C4) plus au moins l'écart-type;
- ✚ L'analyse de ces résultats est réalisée par le logiciel SPSS (Version 20.0), basé sur l'analyse de la variance à un critère d'évaluation (ANOVA) qui permet d'effectuer des

tests de comparaisons multiples, et le logiciel Mendeley, afin d'expliquer les différences entre les moyennes. Les différences sont considérées comme :

- ✓ Significatives lorsque $p \leq 0,05$; (*)
- ✓ Hautement significatives lorsque $p \leq 0,01$; (**)
- ✓ Très hautement significatives lorsque $p \leq 0,001$ (***)

Chapitre 02:

Résultats et Discussion

1. Résultats

1.1. Effet sur l'évolution du taux de protéines totales

Figure (13) représente l'évolution du taux de protéines totales dans la *Paramecium sp* avec des concentrations croissantes de la solution de *Ferula assa-foetida*.

Après une période de 3 heures de traitements, nos résultats montrent qu'en présence de l'oléo-gomme-résine de *Ferula assa-foetida*, le taux de protéines totales tend à augmenter de manière dose dépendante et très hautement significative ($p < 0,001$) pour toutes les concentrations (5, 10, 20 et 30 mg/10mL) respectivement 1.34, 2.01, 2.07, 2.16 et 2.34 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de PF, par rapport aux témoins 1.34 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de PF.

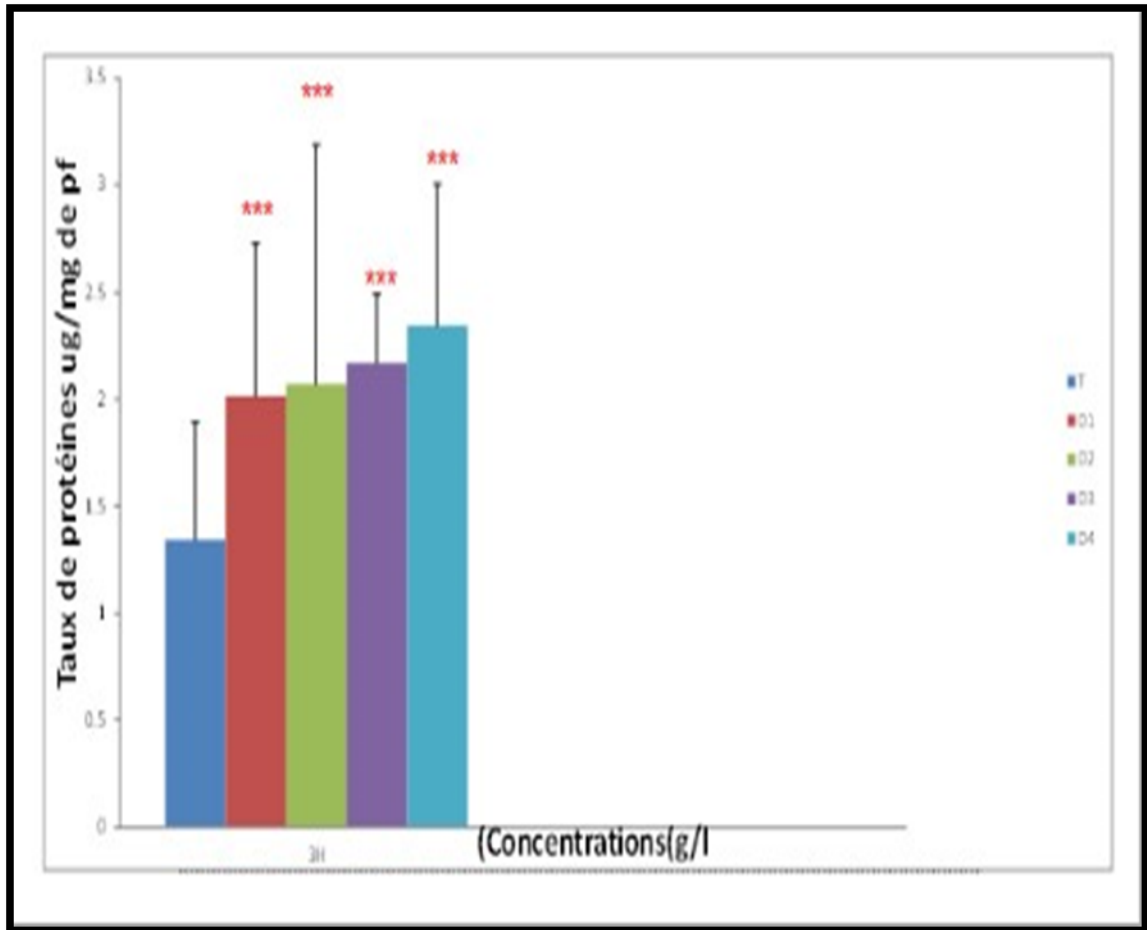


Figure 13: Evolution du taux des protéines totales chez *Paramecium sp* en présence des concentrations croissantes de la gomme-résine de *Ferula assa-foetida*

1.2. Effet sur la variation du monodialdéhyde (MDA)

Figure (14) met en évidence les variations du niveau de MDA dans la *Paramecium sp* traitée avec des concentrations croissantes de solution de l'oléo-gomme-résine *Ferula assa-foetida*.

Selon nos résultats, durant la période de 3 heures nous constatons une augmentation significative avec un ($p=0,05$) du niveau de MDA par rapport au témoin dans les deux doses D1 = 0,527 uml/mg et /D3 = 0,536 ml/mg et une augmentation très hautement significative dans la plus forte concentration D4 = 0,420 avec un $p=0,001$ par rapport au témoin.

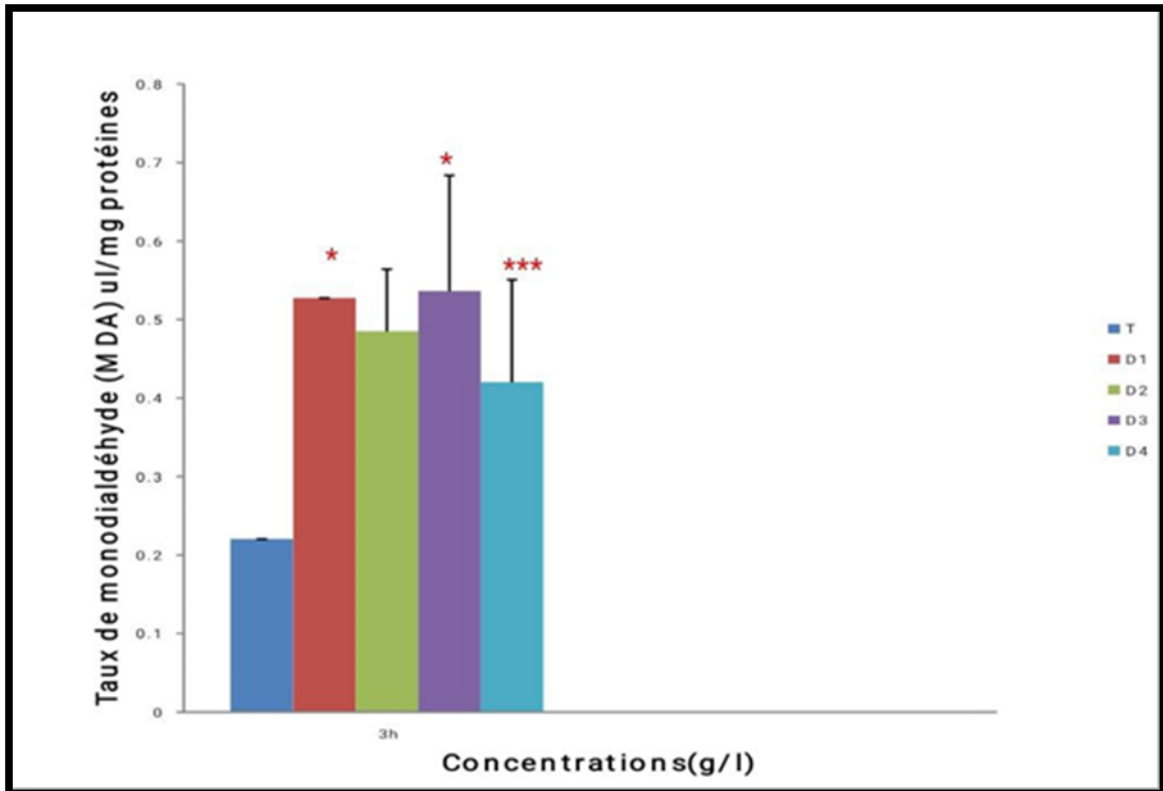


Figure 14: Variation du taux de MDA chez les paramécies en présence des concentrations croissantes de l'oléo-gomme-résine *Ferula assa-foetida*.

1.3. Effet sur la variation de l'activité catalase (CAT)

Les résultats montrent le développement de l'activité CAT dans la *Paramecium sp* traitée avec différentes concentrations de solution de la gomme résine de *Ferula assa-foetida*, représentée sur **Figure 15**: Les résultats ont montré une augmentation très significative de D1 = 1682,16umol/min/mg protéines, $P = 0,001$, et significative de D4 = 2511,02, $P = 0,027$ /0

par rapport au contrôle, une diminution très significative de D3 = 1781,08 et une augmentation non significative de D2 par rapport au témoin.

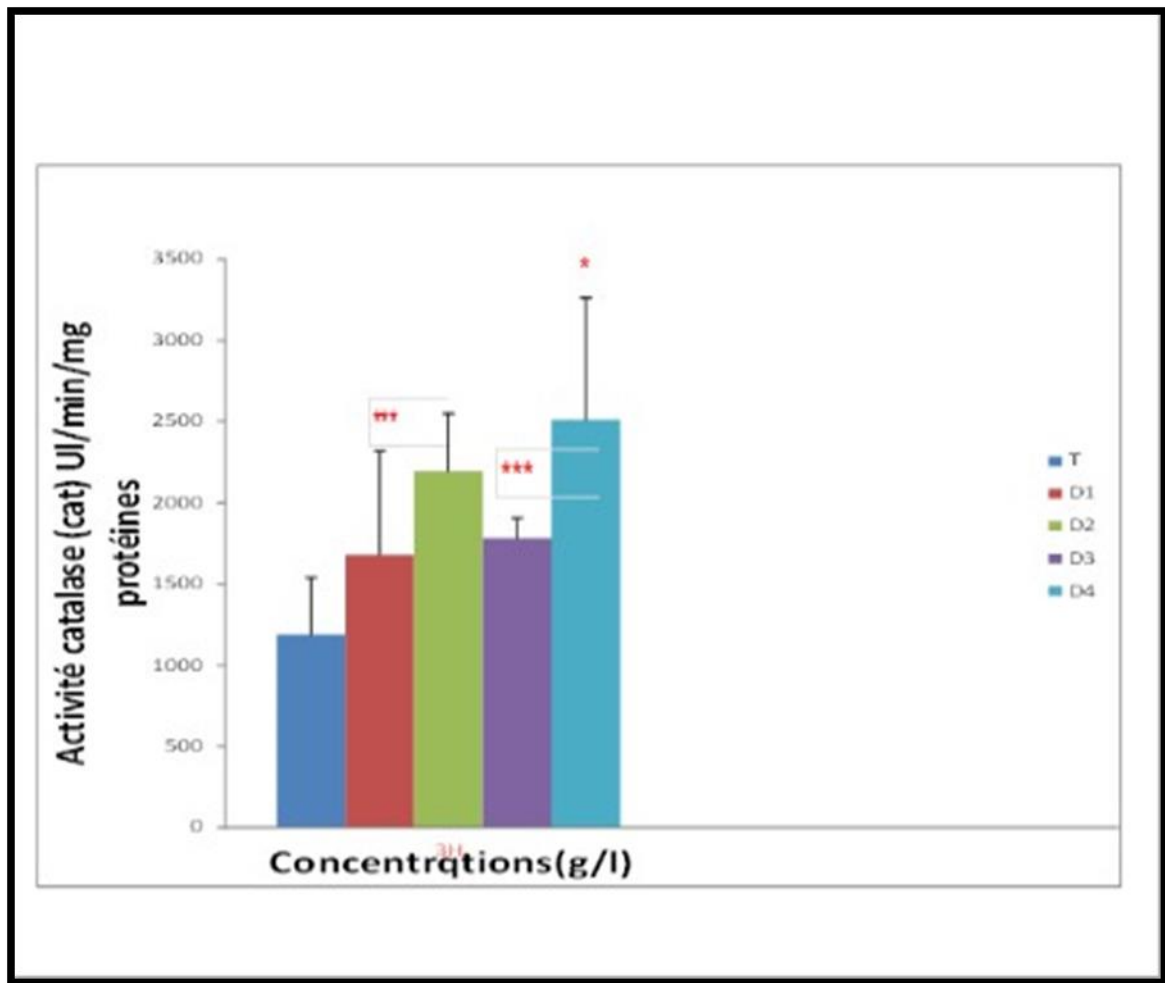


Figure 15: Effet des concentrations croissantes de la gomme résine de *Ferula assafoetida* sur la variation de l'activité CAT chez *Paramecium sp.*

2. Discussion

Quand les micro-organismes sont confrontés à des modifications de leur environnement, ils sont confrontés à un stress. Ce stress peut être extrêmement élevé et entraîne la disparition de ces micro-organismes sans que ces derniers ne soient affectés. Il est possible que ces derniers ne puissent pas réagir, surtout lorsque leurs enzymes de détoxification sont en diminution (Lagadic *et al.*, 1997).

Les micro-organismes peuvent également être moins actifs, ce qui leur permet de développer une multitude de réponses en activant leurs mécanismes de détoxification, afin de combattre, de survivre et, dans certains cas, de s'adapter à ce nouveau paramètre (Lagadic *et*

al., 1997; Benbouzid, 2010; Azzouz, 2012; Sbartai, 2012). Il s'agit d'un processus biochimique.

Plusieurs recherches confirment le rôle des protéines totales chez les microorganismes, notamment (Redouane-Salah, 2004), (Bouaricha *et al.*, 2012) et (Sbartai *et al.*, 2012) qui révèlent une augmentation significative du taux de protéines lors d'un stress chimique. **De même notre étude démontre une forte corrélation dose-réponse entre l'exposition à l'*assa-foetida* et l'expression des protéines totales après 3 heures d'exposition des paramécies.** En effet, nous avons constaté que l'ajout d'*assa-foetida* au milieu dirigé à une augmentation significative de la teneur en protéines totales du *Paramecium sp.* Ceci est en accord avec des études antérieures de Huang, Q., *et al* (2022) ; *l'assa-foetida* a causé une augmentation significative au niveau des protéines totales.

Selon Alberts *et al.*, (1986), les modifications des niveaux de protéines en présence de l'insecticide testé révèlent une entrée importante à travers la membrane cellulaire, qui est composée d'un mélange de lipides et de protéines maintenus par des interactions non covalentes . Le stress chimique provoque une libération de radicaux libres dans l'organisme (Aurousseau, 2002), une altération des composants cellulaires intervient lorsque l'intensité de ces phénomènes augmente anormalement. Tous les composants cellulaires peuvent être touchés: lipides, protéines et donc les membranes dans l'ensemble (Radi *et al.*, 1991); (Halliwell et Chirico, 1993), glucides et ADN (Wolff et dean, 1987; Halliwell et chirico, 1993; Jaeschke, 1995 ; Meneghini,1997). Il est évident que le taux des protéines totales à lui seul ne fournit pas une explication suffisante sur les mécanismes de désintoxication/ biotransformation mis en branle par les paramécies en présence du xénobiotique.

Selon Huggett *et al.* (2004), les biomarqueurs sont des modifications biochimiques et physiologiques mesurées chez des organismes vivants qui sont soumis à des conditions de stress causées par la présence de substances chimiques dans leur environnement.

Parallèlement à l'augmentation des taux des protéines totales, on a notée qu'après 3 heures de l'addition de la gomme résine de *l'assa-foetida* une augmentation dose dépendante du niveau de MDA chez les paramécies. L'expression de l'MDA chez les paramécies semble être sensible à la gomme résine de *l'assa-foetida*, ou nous avons noté une augmentation hautement significative par rapport au témoin. Sbartai *et al.*, 2012; Saib *et al.*, 2014; Moumeni *et al.*, 2016, on notés une augmentation des niveaux de MDA et l'induction de certaines enzymes de défense dans les paramécies exposés à divers substances. Cette augmentation suggère une

probable oxydation des lipides et une dissolution beaucoup plus importante des membranes cellulaires à des concentrations élevées. Les systèmes concernés sont submergés et les enzymes de détoxification sont totalement inhibées (**Huang *et al.*, 1993**).

Les catalases (CAT) sont des enzymes péroxysoniales pour protéger les molécules biologiques des peroxydations causées par l'eau oxygénée. Certaines substances présentes dans les membranes cellulaires sont susceptibles d'induire des stress oxydatifs, (**Livingstone *et al.*, 1993**). La catalase représente un lien important dans la détoxification des ROS générés à la suite d'une toxicité, qui est considérée comme une enzyme présentant une réponse claire et précoce à la contamination. **Dans la présente étude, l'activité CAT s'est révélée être augmentée après 3 heures d'exposition à la gomme résine de *l'assa-foetida* chez les paramicies.** Cette augmentation pourrait être due à une intensification de l'activité antioxydante, pour prévenir l'accumulation des radicaux oxygénés ROS (**Nahla *et al.*, 2012**). Des résultats similaires ont été observés par **Salama *et al.* (2005)**, chez une espèce de gastéropode après exposition au Méthomyl et au Chlorpyrifos ainsi que ceux de **Bouaricha (2013) et de Sbartai (2013)**, qui ont enregistré une intensification de l'activité de la CAT dans les cellules de *Paramecium* traitées au Bifénazat.

Conclusion

Conclusion

Grâce au développement et aux progrès scientifiques dans divers domaines, l'homme a pu progressivement se passer des plantes médicinales en traitement et les remplacer par des médicaments et des préparations chimiques. On s'attendait à ce que la maladie régresse et la contrôle, mais ce qui s'est passé est le contraire. Là où l'homme connaissait des maladies qui n'existaient pas auparavant, et des maladies chroniques sont apparues, ce qui a poussé les scientifiques à se tourner vers l'étude des plantes médicinales pour développer des médicaments sans utiliser de matériel industriel c'est ce qui nous a fait tourner vers l'étude d'une de ces plantes médicinales, *Ferula assa-foetida*. C'est dans ce contexte que nous avons décidé de commencer notre étude sur l'effet de la gomme de *assa-foetida* avec différentes concentrations (5, 10, 20, et 30 mg /ml) pendant 3 heures, sur quelques biomarqueurs de stress MDA /activité CAT chez un modèle cellulaire, ciliés d'eau douce : *Paramecium sp*, considéré comme un indicateur biologique bien adapté aux études toxicologiques.

Les résultats obtenus ont montré une évolution du taux de la principale molécule biologique (les protéines totales), Cependant, l'augmentation croissante du taux de ces dernières dépendrait des différentes concentrations et s'explique que la présence des xénobiotiques à l'intérieur de la cellule stimule la synthèse protéique dont les enzymes et rend compte de la capacité de ces micro-organismes à la métabolisation et détoxification.

D'un autre côté, concernant l'étude des biomarqueurs du stress oxydant : selon les travaux effectués précédemment, nous remarquons une perturbation (dépendante de la dose d'*assa-foetida*) sur du taux de l'MDA parallèlement de l'activité des enzymes antioxydantes CAT chez les paramécies traités par rapport au témoin.

À partir de ces résultats, on peut dire que la gomme de résine de *Ferula assa-foetida* à perturbé le métabolisme global des paramécies, cette perturbation s'est manifestée par l'augmentation du taux de protéines totales qui est lui-même révélateur d'une perturbation du métabolisme cellulaire, et une augmentation des indicateurs oxydatifs du stress MDA et l'activité CAT.

Perspective:

- Comparer les effets observés de l'extrait de *Ferula assa-foetida* à d'autres agents oxydants connus.
- Fait des étude in vivo sur des modèles animaux ou des autres microorganismes et autres biomarqueurs de stress sont nécessaires pour confirmer les effets observés in vitro.
- L'exploration des mécanismes d'action précis de l'extrait au niveau moléculaire est essentielle pour comprendre son potentiel oxydatifs.

Références Bibliographiques

- 1) Abedini, A. (2013). *Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'Hyptis atrorubens Poit.(Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes* (Doctoral dissertation, Université du Droit et de la Santé-Lille II).
- 2) Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K. et Watson J. 1986 . Biologie moléculaire de la cellule. Edition Flammarion. pp: 256- 286.
- 3) Alireza D., Hengameh Z., Abdolrahim D., Mahmood V., Majid E., Reza L., and Seyed Mohammad R. M. (2019). Antimicrobial activity of the essential oil obtained from the seed and oleo-gum-resin of *Ferula assa-foetida* against oral pathogens. *Front Dent*, 16(2) : 113–120. <http://doi: 10.18502/fid.v16i2.1362>.
- 4) Amaroli, A., Trielli, F., Sifredi, F., Chessa, M. G., & Corrado, M. U. D. (2010). Nitric oxide production inhibited by xenobiotic compounds in the protozoan *Paramecium primaurelia*. *Ecological Indicators*, 10(2), 212-216.
- 5) AOUACHERI, W., SAKA, S., DJAFER, R., *et al.* Effet protecteur du diclofénac contre le stress oxydatif induit par la toxicité du paracetamol chez le rat. In : *Annales de Biologie Clinique*. 2009. p. 619.
- 6) Aourousseau B. 2002 . Les radicaux libres dans l'organisme des animaux: Conséquence sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Prod. Anim.* 15(1): 67-82.
- 7) Azzouz Z., Berrebbah H. et Djebar M.R. 2011 . Optimization of *Paramecium tetraurelia* growth kinetics and its sensitivity to combined effects of azoxystrobin and cyproconazole. *African Journal of Microbiology Research*. 5(20): 3243-3250 .
- 8) Bahrami, G., Soltani, R., Sajjadi, S. E., Kanani, M. R., Naderi, R., Ghiasvand, N., & Shokoohinia, Y. (2013). Essential oil composition of *Ferula assa-foetida* L. fruits from Western Iran. *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*, 2(2), 90-97.
- 9) Bartosz, G. (2003). Total antioxidant capacity. *Advances in clinical chemistry*, 37, 219-292.
- 10) Baudin B, Stress oxydant et protections antioxydantes, oxidative stress and antioxidant protections. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020, 2:22-30.
- 11) Baudin, B. (2020). Stress oxydant et protections antioxydantes. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020(522), 22-30.

- 12) Beal, D.L., and Anderson, R.V. 1993. Response of Zooplankton to rotenone in a small pond. *Bull.Environ.Contam.Toxicol.*51 : 551-556.
- 13) Beaumont et Cassier ; 1998. *Travaux Pratiques de Biologie Animale, Zoologie, Embryologie, Histologie*, 3ème édition DUNOD, pp : 123-143.
- 14) Benbouzid H. 2010. Evaluation et étude de la toxicité d'une famille d'acaricides sur des protistes ciliés . Thèse de doctorat . Université Badj Mokhtar . Annaba . Algérie. pp: 114.
- 15) Bengueddach, H. (2016). *Etude des protéines VFL3 et OFD1 dans le mécanisme d'ancrage des corps basaux chez la paramécie* (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay).
- 16) Bennett, J. L., & Cabbage, J. (1992). *Evaluation of bioassay organisms for freshwater sediment toxicity testing*. Environmental Investigations and Laboratory Services Program, Washington State Department of Ecology.
- 17) Berrebbah, H. 1990. Etude du contrôle de la mobilité flagellaire et ciliaire par le calcium. Effet du lindane, insecticide organochloré. Thèse de Doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie, Paris VII : 144 pages.
- 18) Bhattacharyya, A., Chattopadhyay, R., Mitra, S., & Crowe, S. E. (2014). Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiological reviews*, 94(2), 329-354.
- 19) Bonnefont-Rousselot, D., Théron, P., Delattre, J. (2003) Radicaux libres et anti-oxydants. IN : *Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires*. Delattre, J ., Durand, G ., Jardillier, J.C. Eds: *Médecine-sciences. Flammarion* (Paris), Pp: 59-81
- 20) Bouaricha H. 2013. Evaluation du stress oxydatif induit par le Proclaim : Essai comparatif sur deux modèles biologiques (Helixaspersaet Parameciumsp.)Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar. Annaba, Algerie. pp: 148.
- 21) Bouaricha H., Berrebbah H., Grara N. and Djebar M.R. 2012. Response of Paramecium sp. with respect to an insecticide (Proclaim): growth, content of MDA, AChE activity and respiratory metabolism. *Journal of Applied Sciences Research*. 8(8): 4172-4180.
- 22) Boudjouref M., 2011. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris L. Thèse de Magister en Biochimie, Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. 99 p .

- 23) Bruneton J., 2005. "Plantes toxique: Végétaux dangereux pour l'Homme et les animaux" .3éme Ed. édition médicales internationales, Paris
- 24) Bruneton J., 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinale. 4éme Edition Lavoisier. Paris, 1234p.
- 25) Cette conclusion est en accord parfait avec les recherches de plusieurs auteurs qui ont signalé des variations dans les niveaux de GSH, une augmentation des niveaux de MDA et l'induction de certaines enzymes de défense dans les paramecia exposés à divers pesticides (**Sbartai et al., 2012; Saib et al., 2014; Moumeni et al., 2016**).
- 26) Chapman P.M.; (2001) Utility and relevance of aquatic oligochaetes in ecological risk assessment. *Hydrobiologia* 463, 149–169
- 27) Clarkson PM and Thompson HS. (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *American Journal of Clinical Nutrition*. 72(2):637- 646.
- 28) Clarkson, P. M., & Thompson, H. S. (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?. *The American journal of clinical nutrition*, 72(2), 637S-646S.
- 29) Coste H et Flahault C. H. (1998). Flore Description et illustrée de la France de la Corse et des contrées limitrophes. Tome II. Ed. Librairie scientifique et technique, Paris
- 30) Cudmore, L. L. (1978). *The Center of Life: A Natural History of the Cell* (Vol. 3011). Times Books (NY).
- 31) Cummins, I., Dixon, D. P., Freitag-Pohl, S., Skipsey, M., & Edwards, R. (2011). Multiple roles for plant glutathione transferases in xenobiotic detoxification. *Drug metabolism reviews*, 43(2), 266-280.
- 32) Deavall, D. G., Martin, E. A., Horner, J. M., & Roberts, R. (2012). Drug-induced oxidative stress and toxicity. *Journal of toxicology*, 2012.
- 33) Delattre J, Beaudoux J L, Bonnefont-Rousselot D. Radicaux libres et stress oxydant. Tec & Doc Lavoisier, 2005, 549 p
- 34) Des résultats similaires ont été observés par **Salama et al. (2005)**, chez une espèce de gastéropode après exposition au Méthomyl et au Chlorpyrifos ainsi que ceux de

- Bouaricha (2013) et de Sbartai (2013)**, qui ont enregistré une intensification de l'activité de la CAT dans les cellules de Paramecium traitées au Bifénazate et au Proclamer.
- 35) Di Giulio 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. *Aquatic Toxicology*. 26: 1-22.
- 36) Dragesco, J., Dragesco-Kernéis A., Fryd-Versavel, G. 1986. Ciliés libres de l'Afrique intertropicale: introduction à la connaissance et à l'étude des Ciliés. IRD Editions. p. 559.
- 37) Eskandari Damaneh, N., & Sharafatmandrad, M. (2016). Assessing the effects of different incision techniques on *Ferula assafoetida* Properties. *Journal of Rangeland Science*, 7(1), 45-54.
- 38) Fang, F. C. (2004). Antimicrobial reactive oxygen and nitrogen species: concepts and controversies. *Nature Reviews Microbiology*, 2(10), 820-832.
- 39) Favier A. (2003). Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanismes biochimiques*, 270: 108-115.
- 40) Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
- 41) Fetoni AR, Paciello F, Rolesi R, Paludetti G, Troiani D. Targeting dysregulation of redox homeostasis in noise-induced hearing loss: Oxidative stress and ROS signaling. *Free Rad Biol Med*, 2019, 135:46-59.
- 42) Finaud, J., Lac, G., & Filaire, E. (2006). Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports medicine*, 36, 327-358.
- 43) Golmohammadi F., Ghoreyshi E., Parvaneh H., 2016. *Ferula assa-foetida* as a main medical plant in east of Iran (harvesting, main characteristics and economical importance). *I. J.F..A.S*, 475p.
- 44) Golmohammadi F., Ghoreyshi E., Parvaneh H., 2016. *Ferula assa-foetida* as a main medical plant in east of Iran (harvesting, main characteristics and economical importance). *I. J.F..A.S*, 475p.
- 45) Gräf, F. and Stahr, K.1999. A Soil and Terrain Map of SW-Niger (NiSOTER). In: Atlas of Benin and Niger.

- 46) Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10).
- 47) Halliwell B. and Chirico S. 1993. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am. J. Clin. Nutr* 57(suppl). pp: 715.
- 48) Halliwell B., Chirico S., 1993. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am. J. Clin. Nutr* 57(suppl). p715.
- 49) Hellou, J., Ross, N. W., & Moon, T. W. (2012). Glutathione, glutathione S-transferase, and glutathione conjugates, complementary markers of oxidative stress in aquatic biota. *Environmental Science and Pollution Research*, 19, 2007-2023.
- 50) Hemla A., Nidhi K., 2009. Foods Used as Ethno-medicine in Jammu. *Ethno-Med*, 3(1): p 65–68.
- 51) Huang C.J. and Fwu M.L. 1993. Degree of protein deficiency affects the extent of the depression of the antioxidative enzyme activities and the enhancement of tissue lipid peroxidation in rats. *J. Nutr.* 123: 803-810.
- 52) Huggett R.J., Kimerie P.M., Mehrle JR. and Bergman H.L. & EDS. 2004. *Biomarkers. Biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress.* Boca Raton, Fla, Lewis Publishers. pp: 347
- 53) Il est évident que le taux des protéines totales à lui seul ne fournit pas une explication suffisante sur les mécanismes de désintoxication / biotransformation mis en branle par les paramécies en présence du xénobiotique, c'est alors qu'on a étudié l'effet des Extraits sur le taux du MDA et de l'activité Catalase.
- 54) Jaeschke H. 1995. Mechanisms of oxidant stress-induced acute tissue injury. *Proc, Soc, Exp, Biol. Med.* pp: 209.
- 55) Januels, (2003). citer dans SAADI, W., & AIDOU DI, N. (2020). *Neurotoxicité induite par la deltamethrine chez les rats et l'effet préventif d'un extrait d'une plante medicinale sur cette toxicité* (Doctoral dissertation, Universite laarbi tebessi tebessa).
- 56) Jean, B. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*. Lavoisier.
- 57) John M., 1992. Contraception and abortion from the ancient world to the Renaissance. Harvard Univ, Press, 28 p.

- 58) Kareparamban JA , Nikam PH , Jadhav AP, Kadam VJ.,2012. *Ferula foetida*“Hing” A Review. Article, Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences,786p
- 59) Khalighi-Sigaroodi F, Hadjiakhoondi A, Shafiee A, Mozaffarian VA, Shahverdi AR, Alavi SHR. (2006) Phytochemical analysis of *Ferulago Bernardii* Tomk and M Pimen. *Daru*. 14: 214– 221.
- 60) Kirschvink, N., de Moffarts, B., & Lekeux, P. (2008). The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal*, 177(2), 178-191.
- 61) Komala, Z. (1995). Notes on the use of invertebrates, especially ciliates, in studies on pollution and toxicity. *FOLIA BIOLOGICA-KRAKOW-*, 43, 25-28.
- 62) Kuhn H. & Borchert A. (2002) Regulation of enzymatic lipid peroxidation: the interplay of peroxidizing and peroxide reducing enzymes. *Free Radic. Biol. Med.* 33, 154-172.
- 63) Labrot F., Ribera D., Saint-Denis M., Narbonne J.F. 1996. In vitro and in vivo studies of potential biomarkers of lead and uranium contamination: lipid peroxidation, acetylcholinesterase, catalase and glutathione peroxydase activities in three non mammalian species. *Biomarkers*. 1: 21-28 .
- 64) Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C. et Ramade F. 1997. *Biomarqueurs en écotoxicologie: Aspects fondamentaux*. Edition Masson. pp: 33-53
- 65) Lamprecht, M., Greilberger, J., & Oetl, K. (2004). Analytical aspects of oxidatively modified substances in sports and exercises. *Nutrition*, 20(7-8), 728-730.
- 66) L'augmentation du niveau de MDA observée dans cette étude suggère une probable oxydation des lipides et une dissolution beaucoup plus importante des membranes cellulaires à des concentrations élevées. Les systèmes concernés sont submergés et les enzymes de détoxification sont totalement inhibées en raison de la capacité des systèmes à supporter l'influx massif de radicaux libres résultant de l'exposition de paramecia à des concentrations élevées de ce xénobiotique (**Huang et al., 1993**).
- 67) Le stress chimique provoque une libération de radicaux libres dans l'organisme (**Aurousseau, 2002**), une altération des composants cellulaires intervient lorsque l'intensité de ces phénomènes augmente anormalement. Tous les composants cellulaires peuvent être touchés: lipides, protéines et donc les membranes dans l'ensemble (**Radi et**

- al., 1991); (Halliwell et Chrigo, 1993), glucides et ADN (Wolff et dean, 1987; Halliwell et chirico, 1993; Jaeschke, 1995 ; Meneghini,1997).
- 68) Les catalases (CAT) sont des enzymes péroxysomales pour protéger les molécules biologiques des peroxydations causées par l'eau oxygénée. Certaines substances présentes dans les membranes cellulaires sont susceptibles d'induire des stress oxydatifs, tels que les HAP, les PCB, certains pesticides (Livingstone et al., 1993) et les métaux (Labrot et al., 1996). Cependant, cette sensibilité varie de manière irrégulière in vivo, avec des résultats montrant une augmentation de cette activité (Di Giulio et al., 1993) et une diminution (Labrot et al., 1996). Notre étude a révélé une augmentation de l'activité catalase chez les *Paramecium sp.* traités avec notre Extraits
- 69) Les micro-organismes peuvent également être moins actifs, ce qui leur permet de développer une multitude de réponses en activant leurs mécanismes de détoxification, afin de combattre, de survivre et, dans certains cas, de s'adapter à ce nouveau paramètre (Lagadic et al., 1997; Benbouzid, 2010; Azzouz, 2012; Sbartai, 2012). Il s'agit d'un processus biochimique.
- 70) Livingstone D.R., Lemaire P., Matthews A., Peters L.D., Bucke D. and Law R.J. 1993. Pro oxidant, antioxidant and 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) activity responses in liver of dab (*Limanda limanda*) exposed to sediment contaminated with hydrocarbons and other chemicals. *Marine Pollution Bulletin*. 26: 602-606.
- 71) Marreiro DN, Cruz KJC. Zinc and oxidative Stress: Current Mechanisms. *Antioxidants* 2017, 6(2): 1-24.
- 72) Massart, A. (2011). *Supplémentation en oméga 3 et antioxydant et stress oxydant au cours d'un entraînement de judo* (Doctoral dissertation, Université d'Orléans).
- 73) Meneghini R. 1997. Iron homeostasis, oxidative stress, and DNA damage. *Free Radic. Biol. Med*:23. pp: 783.
- 74) Migdal C, Serres M. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Méd Scien*, 2011, 27 : 405-12.
- 75) Mohamed H.,2009. "Influenza A (H1N1) Antiviral and Cytotoxic Agents from *Ferula assa-foetida*". *Journal of Natural Products* : p 1568–72.

- 76) Moumeni, O. ; Berrebbah, H. ; Azzouz, Z. ; Amamra, R. ; Otmani, H. ; Alayat, N.; Benosmane, S., Djebbar, M.R. (2016). Effects of Cycloxiidim on population growth, phagocytosis, contractile vacuole activity and antioxidant responses in freshwater ciliate (*Paramecium tetraurélia*). *Research Journal of Environmental Toxicology*. 10: 115-125.
- 77) Patrick, L. (2006). Lead toxicity part II: the role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity. *Alternative medicine review*, 11(2).
- 78) Pimenov M. G., Leonov M. V. (1993). The genera of the Umbelliferae: a nomenclator. Ed. Royal Botanical Garden, Kew.
- 79) Plusieurs recherches confirment le rôle des protéines totales chez les microorganismes, notamment (**Redouane-Salah, 2004**), (**Bouaricha et al., 2012**) et (**Sbartai et al., 2012**) qui révèlent une augmentation significative du taux de protéines lors d'un stress chimique. Le dosage des protéines totales a confirmé une augmentation croissante et dose-dépendante de ces dernières en présence du xénobiotique testé, ce qui confirme nos résultats dans le sens de ces travaux.
- 80) Purves W.K., Orians G.H., Heller H.G., Sadava D., 2000. Le monde du vivant, 2ème édition Flammarion, pp 552–577.
- 81) Quand les micro-organismes sont confrontés à des modifications de leur environnement, ils sont confrontés à un stress. Ce stress peut être extrêmement élevé et entraîne la disparition de ces micro-organismes sans que ces derniers ne soient affectés. Il est possible que ces derniers ne puissent pas réagir, surtout lorsque leurs enzymes de détoxification sont en diminution (**Lagadic et al. 1997**).
- 82) Radak, Z., Asano, K., Inoue, M., Kizaki, T., Oh-Ishi, S., Suzuki, K., ... & Ohno, H. (1995). Superoxide dismutase derivative reduces oxidative damage in skeletal muscle of rats during exhaustive exercise. *Journal of applied physiology*, 79(1), 129-135.
- 83) Radi F., Beckman J.S., Bush K.M. and Freeman B.A. 1991. Peroxynitrite oxidation of sulhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J. Biol. Chem.* 266 :4244- 4250.
- 84) Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V., Sahana, D. K., & Kumar, M. R. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of controlled release*, 113(3), 189-207.

- 85) Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked?. *Free radical biology and medicine*, 49(11), 1603-1616.
- 86) Ribeiro, T. P., Fernandes, C., Melo, K. V., Ferreira, S. S., Lessa, J. A., Franco, R. W., ... & Horn Jr, A. (2015). Iron, copper, and manganese complexes with in vitro superoxide dismutase and/or catalase activities that keep *Saccharomyces cerevisiae* cells alive under severe oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 80, 67-76.
- 87) Rouabhi, R., Berrebbah, H., & Djebbar, M. R. (2006). Toxicity evaluation of flucyclozuron and diflubenzuron on the cellular model, *Paramecium sp.* *African Journal of Biotechnology*, 5(1), 45-48.
- 88) Sáez, G. T., & Están-Capell, N. (2014). Antioxidant enzymes. *Encyclopedia of Cancer; Schwab, M., Ed.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany*, 288-294.
- 89) Sahnoun, Z., Jamoussi, K., & Mounir Zeghal, K. (1997). Radicaux libres et anti-oxydants: physiologie, pathologie humaine et aspects thérapeutiques. *Thérapie (Paris)*, 52(4), 251-270.
- 90) Saib, A. ; Berrebbah, H. ; Berredjem, M. and Djebbar, M.R. (2014). Cytotoxic study of three derivatives amidophosphanates on alternative cellular model: *Paramecium tetraurelia*. *Toxicol. Res.* 3: 395-399.
- 91) Saidi Merzouk A, Loukidi B, Bettioui R, Merzouk H. Effects of vitamin c and e against oxidative stress: is antioxidant supplementation efficient?“, *Current Nutraceuticals* ,2020,1: 34-39.
- 92) Salama A.K., Osman K.A., Saber N.A. and Soliman S.A. 2005. Oxidative stress induced by different pesticides in the land snail, *Helix aspersa*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 8: 92-96
- 93) Samworth M., Morgan M., 2000. Article on pond life: *Paramecium*. MISCape Article: *Paramecium*, Text by MIKE SAMWORTH, images by MIKE MORGAN. Dec.95 Updated by the MISCape Editor April 2000.
- 94) Samworth, M and Morgan, M. (2000). Article on pond life: *Paramecium*. MISCape Article: *Paramecium*. Dec.95 Updated by the MISCape Editor April 2000.

- 95) Sayre, L. M., Moreira, P. I., Smith, M. A., & Perry, G. (2005). Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Annali dell'Istituto superiore di sanita*, 41(2), 143-164.
- 96) Sbarati I., Berrebbah H., Sbartai H., Djebbar M.R., 2012. Evaluation of the toxicity of hydrazine (Bifenazate) and oxadiazine (indoxacarb) observed in a unicellular eukaryotes: *Paramecium* sp. *Advanced in Environmental Biology*. 6 (8):2249-2258
- 97) Sbartai, I., 2013. Toxicity of a hydrazine carboxylate (Bifenazate) and an oxadiazine (Indoxacarb) observed in a cellular freshwater model: *Paramecium* sp. Ph.D. Dissertation, Badji Mokhtar University, Annaba, Algeria.
- 98) Selon **Alberts et al. (1986)**, les modifications des niveaux de protéines en présence de l'insecticide testé révèlent une entrée importante à travers la membrane cellulaire, qui est composée d'un mélange de lipides et de protéines maintenus par des interactions non covalentes.
- 99) **Selon Huggett et al. (2004)**, les biomarqueurs sont des modifications biochimiques et physiologiques mesurées chez des organismes vivants qui sont soumis à des conditions de stress causées par la présence de substances chimiques dans leur environnement.
- 100) Spiteller G. (2006). Peroxyl radicals: Inductors of neurodegenerative and other inflammatory diseases. Their origin and how they transform cholesterol, phospholipids, plasmalogens, polyunsaturated fatty acids, sugars, and proteins into deleterious products. *Free Radical Biology Medicine*. 41(3):362–387.
- 101) Tan, K. H., Meyer, D. J., Coles, B., & Ketterer, B. (1986). Thymine hydroperoxide, a substrate for rat Se-dependent glutathione peroxidase and glutathione transferase isoenzymes. *FEBS letters*, 207(2), 231-233.
- 102) Traber MG, Stevens JF. Vitamins C and E: Beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free Radic Biol Med*, 2011, 51(5): 1000–1013.
- 103) Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *IntJ Biochem Cell Biol*. 39:44-84.
- 104) Vamecq, J., Vallée, L., Storme, L., Gelé, P., & Bordet, R. (2004). Les acteurs immédiats du stress oxydatif. *La Lettre du pharmacologue (Boulogne)*, 18(1), 16-23.

- 105) Venkateswara, J., Srikanth, K., Arepalli, S.K., Gunda, V.G. 2006. Toxic effects of acephate on *Paramecium* caudatum with special emphasis on morphology, behavior and generation time. *Pesticide Biochemistry and physiology*.(86): 131-137.doi:10.1016/j.pestbp.2006.02005.
- 106) Wehner R., Gehring W., 1995. *Biologie et Physiologie Animales. Bases moléculaires, cellulaires, anatomiques et fonctionnelles : Orientation comparée et évolutive.* Deboeck Université. Thieme Verlag, 286–287.
- 107) Williamson, G. (2017). The role of polyphenols in modern nutrition. *Nutrition bulletin*, 42(3), 226-235.
- 108) Wolff, S. P., & Dean, R. T. (1987). Monosaccharide autoxidation: A potential source of oxidative stress in diabetes?: Model reactions with nucleotides and protein. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 18(1-3), 283-293.
- 109) Zahia, B. O. U. C. H. E. R. I. T. (2017). *Etude in vitro. de l'effet antioxydant des complexes Flavonoïdes-Métaux: Relation structure activité* (Doctoral dissertation, Université de Strasbourg).
- 110) Zhou, S. S., Li, D., Chen, N. N., & Zhou, Y. (2015). Vitamin paradox in obesity: deficiency or excess?. *World journal of diabetes*, 6(10), 1158.
- 111) Zitka, O., Skalickova, S., Gumulec, J., Masarik, M., Adam, V., Hubalek, J., ... & Kizek, R. (2012). Redox status expressed as GSH: GSSG ratio as a marker for oxidative stress in paediatric tumour patients. *Oncology letters*, 4(6), 1247-1253.
- 112) Zoidis, E., Seremelis, I., Kontopoulos, N., & Danezis, G. P. (2018). Selenium-dependent antioxidant enzymes: Actions and properties of selenoproteins. *Antioxidants*, 7(5), 66.

Annexes

Annexe 01 : Etude statistique ANOVA de MDA

```
>Warning # 849 in column 23. Text: fr_DZ
>The LOCALE subcommand of the SET command has an invalid parameter. It could
>not be mapped to a valid backend locale.
GET DATA /TYPE=XLSX
      /FILE='C:\Users\LAPTA\Downloads\MDAInew.
xlsx
'

/
SHEET=name '1Li,j'
/CELLRANGE=full
/READNAMES=on
/ASSUMEDSTRWIDTH=32767.
EXECUTE.
DATASET NAME DataSet1 WINDOW=FRONT.
ONEWAY

MDA

BY group
/PLOT MEANS
/MISSING ANALYSIS
/POSTHOC=BTUKEY DUNNETT (1) ALPHA(0.05).

Oneway
```

Notes

Output Created		14-MAY-2024 07:38:55
Comments		
Input	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	15
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each analysis are based on cases with no missing data for any variable in the analysis.
Syntax		ONEWAY MDA BY group /PLOT MEANS /MISSING ANALYSIS /POSTHOC=BTUKEY DUNNETT (1) ALPHA(0.05).
Resources	Processor Time	00:00:00.88
	Elapsed Time	00:00:01.13

[DataSet1]

ANOVA

MDA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,000	4	,051	3,000	,066
Within Groups	,000	10	,016		
Total	,000	14			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MDA

	(I) group	(J) group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% ...
						Lower Bound
Dunnett t (2-sided) ^a	2,0	1,0	,306889996	,1042116571	,046	,0056682631
	3,0	1,0	,2647598426	,1042116571	,088	-,036461890
	4,0	1,0	,315978860	,1042116571	,040	,0147571278
	5,0	1,0	,1998569250	,1042116571	,000	-,101364808

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MDA

	(I) group	(J) group	95% Confidence
			Upper Bound
Dunnett t (2-sided) ^a	2,0	1,0	.6081117282
	3,0	1,0	.5659815751
	4,0	1,0	.6172005929
	5,0	1,0	.5010786575

^a. The mean difference is significant at the 0.05 level.

a. Dunnett t-tests treat one group as a control, and compare all other groups against it.

Homogeneous Subsets

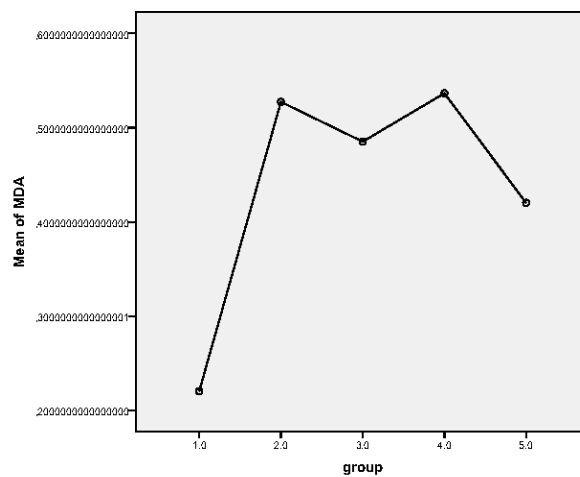
MDA

group	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Tukey B ^a 1,0	3	.2204395630
5,0	3	.4202964880
3,0	3	.4851994056
2,0	3	.5273295587
4,0	3	.5364184234

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Means Plots



Annexe 02 : Etude statistique ANOVA de CAT

```
>Warning # 849 in column 23. Text: fr_DZ
>The LOCALE subcommand of the SET command has an invalid parameter. It could
>not be mapped to a valid backend locale.
GET DATA /TYPE=XLSX
  /FILE='C:\Users\LAPTA\Downloads\Catalase1 (1) (1).
xlsx
'

/
SHEET=name 'LI,j'
  /CELLRANGE=full
  /READNAMES=on
  /ASSUMEDSTRWIDTH=32767.
EXECUTE.
DATASET NAME DataSet1 WINDOW=FRONT.
ONEWAY

Catalase

BY Group
  /PLOT MEANS
  /MISSING ANALYSIS
  /POSTHOC=BTUKEY DUNNETT (1) ALPHA(0.05).

Oneway
```

Notes

Output Created		13-MAY-2024 11:53:42
Comments		
Input	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	15
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each analysis are based on cases with no missing data for any variable in the analysis.
Syntax		ONEWAY Catalase BY Group /PLOT MEANS /MISSING ANALYSIS /POSTHOC=BTUKEY DUNNETT (1) ALPHA(0.05).
Resources	Processor Time	00:00:00.84
	Elapsed Time	00:00:01.06

[DataSet1]

ANOVA

Catalase

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3069777,000	4	767444,000	3,000	,066
Within Groups	2458447,000	10	245844,000		
Total	5528225,000	14			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Catalase

	(I) Group	(J) Group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% ...
						Lower Bound
Dunnett t (2-sided) ^a	2,0	1,0	493,00000	404,00000	,000	-677,0126
	3,0	1,0	1005,00000	404,00000	,097	-164,0000
	4,0	1,0	592,08333	404,00000	,000	-578,0000
	5,0	1,0	1322,02333	404,00000	,027	151,0000

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Catalase

	(I) Group	(J) Group	95% Confidence
			Upper Bound
Dunnett t (2-sided) ^a	2,0	1,0	1663,0000
	3,0	1,0	2175,0000
	4,0	1,0	1762,0000
	5,0	1,0	2492,0000

^a. The mean difference is significant at the 0.05 level.

a. Dunnett t-tests treat one group as a control, and compare all other groups against it.

Homogeneous Subsets

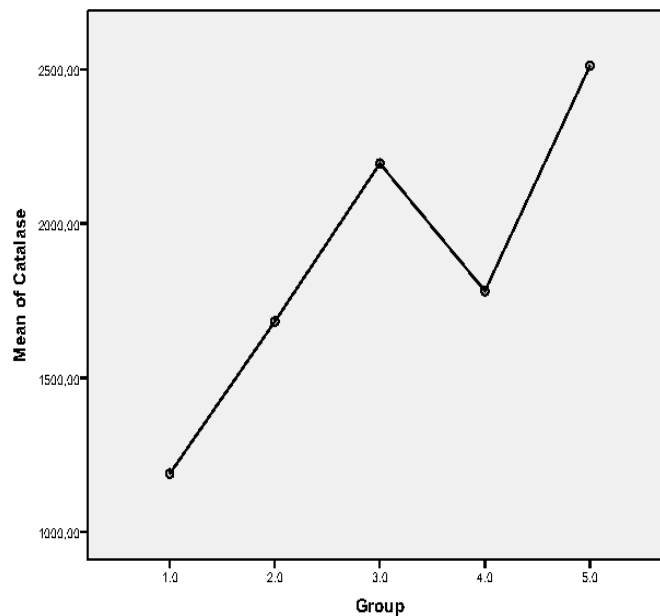
Catalase

	Group	N	Subset for alpha = 0.05
			1
Tukey B ^a	1,0	3	1188,0000
	2,0	3	1682,0000
	4,0	3	1781,0767
	3,0	3	2194,0000
	5,0	3	2511,0167

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Means Plots



Annexe 03 : Etude statistique ANOVA de Protéine total

Warning # 849 in column 23. Text: fr_DZ			
The LOCALE subcommand of the SET command has an invalid parameter. It could not be mapped to a valid backend locale.			
GET DATA			
/TYPE=XLS			
/FILE='C:\Users\LAPTA\Downloads\Protéines totales FIN.xls'			
/SHEET=name 'ورقة 1'			
/CELLRANGE=full			
/READNAMES=on			
/ASSUMEDSTRWIDTH=32767.			
EXECUTE.			
DATASET NAME DataSet1 WINDOW=FRONT.			
ONEWAY protient BY Group			
/PLOT MEANS			
/MISSING ANALYSIS			
/POSTHOC=BTUKEY DUNNETT (1) ALPHA(0.05).			
Oneway			

Notes							
Output Created		10-MAY-2024 18:27:17					
Comments							
Input	Active Dataset	DataSet1					
	Filter	<none>					
	Weight	<none>					
	Split File	<none>					
	N of Rows in Working Data File	15					
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.					
	Cases Used	Statistics for each analysis are based on cases with no missing data for any variable in the analysis.					
Syntax		ONEWAY protienT BY Group /PLOT MEANS /MISSING ANALYSIS /POSTHOC=BTUKEY DUNNETT (1) ALPHA(0.05).					
Resources	Processor Time	00:00:02.33					
	Elapsed Time	00:00:01.84					
[DataSet1]							
ANOVA							
protien T							
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.		
Between Groups	1,000	4	0,000	0,000	0,000		
Within Groups	5,000	10	0,000				
Total	6,000	14					
Post Hoc Tests							
Multiple Comparisons							
Dependent Variable: protien T							
(I) Group			Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Dunnnett (2-sided) ^a	2	1	#####	#####	0,000	#####	#####
	3	1	#####	#####	0,000	#####	#####
	4	1	#####	#####	0,000	#####	#####
	5	1	#####	#####	0,000	#####	#####
a. Dunnnett t-tests treat one group as a control, and compare all other groups against it.							

Homogeneous Subsets

protien T

Group	N	Subset for alpha = 0.05
Tukey B ^a		1
1	3	#####
2	3	#####
3	3	#####
4	3	#####
5	3	#####

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Means Plots

