

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique
Université Dr. Moulay Taher Saïda
Faculté des Science
Département De Biologie



MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME
DE MASTER EN BIOLOGIE

Option : **Biochimie et Physiologie Cellulaire**

Intitulé :

« Contribution à l'étude de l'effet d'une exposition subchronique au 5-phenyl-1, 2,4-triazole-3-thiol (khacinothionyl) sur la fonction hépatique chez les jeunes rats Wistar. Etude biochimique et histologique ».

Présenté par :

- Arabi Cherifa
- Hamed Djamila

Soutenu le : 16.06.2015

Devant le jury composé de :

Mr Adli Djallel Eddine Houari Maître - assistant « A » U de Saïda U de Saida Président

Mme Dahani Moufida Maître - assistante « A » U de Saïda Examinatrice

Mr Kahloula Khaled Maître - conférence «A » U de Saida Encadreur

M^{elle} Hadjadj Hassina Maître - assistante « B » U de Saida Co.Encadreur

Année Universitaire : 2014-2015

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions le Dieu, notre créateur de nos avoir donné les forces, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste.

Nous adressons le grand remerciement à notre encadreur Mr ***Kahloula Khaled*** qui a proposé le thème de ce mémoire, pour tout le soutien, l'aide, l'orientation, la guidance qu'elle nous apportés durant les cinq ans, et pour la réalisation de ce mémoire.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à M^{elle} ***Hadjaj Hassina*** pour tout le temps qu'elle nous a consacré, leur directives précieuses, et pour la qualité de leur suivi durant toute la période de ce travail. .

Nous tenons également à remercier messieurs les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance, tout particulièrement : Mr ***Adli Djalleledine Houari*** pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude à Mme. ***Dahani Mofida*** pour avoir faire de lecteur notre mémoire, aller l'examiner et ils peuvent évaluer cette mémoire.

Nous tenons à remercier tout particulièrement Mr ***Benali, O et Ouissi, H***

Nous vous remercions pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail et pour vos précieux conseils et remarques.

Finalement, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à nos familles qui nous ont toujours soutenues et à tout ce qui participe de réaliser ce mémoire (***Mutapha*** et ***Zakaria***). Ainsi que l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mes parents :

Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de

l'amour Dont ils ne cessent de me combler.

Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

Surtout à ma mère a qui j'offre ce cadeau à l'occasion de son anniversaire aujourd'hui

A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce projet : mon frère **Med**

Kamel.

Mon adorable **Abd el nnacer**

Mes petites sœurs **Bouchra et nour el houda**

toute ma famille, **Arabi et Madoun**

mon binôme **Imen** et toute la famille Aouimer.

Mes grands-parents et je souhaite que dieu les préserve et leurs accorde sa miséricorde
Je dédie aussi ce travail à ma future famille à qui je souhaite tout le bonheur et la prospérité .

mes chères amies **Amina, Amel, Narimen, Wafaa, et Khadidja**

Un grand remerciement a **Zakaria et Mustapha**

En fin et a tous les gens qui étaient là pour moi de loin et de près

Cherifa



Dédicace

*A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour
A ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans mes
Moments les plus difficiles.*

À celui qui a laissé une empreinte gravée dans mon cœur.

.....à mon père.

*À celle qui a attendu avec patience les fruits de sa bonne éducation et qui s'est sacrifiée pour
que je puisse terminer mes études.*

.....à ma mère.

A mes frères :Abdelkrim ,Oussama et Chahredine.

*À l'incomparable monsieur Kahloula qui m'a vraiment soutenu sans oublié M^{elle} Hadjadj et
ses efforts.*

*À mes deux meilleurs amies Cherifa et Ibtisem les anges qui veillent
sur mon bien être et qui savent être là quand il le faut sans oublier Mustapha .*

*A tous mes amis (e) Amina, Amel, Narimen, Wafaa, Halima, Fakhet, Rbiha,Nadia, ZAKI et
Khaira, AzizeET Djamel .*

*Mes grands-parents et je souhaite que dieu les préserve et leurs accorde sa miséricorde
À mes tantes Moudjilali, houaria, karima, Naima ,Soumia,Khaira et mes oncles et aussi à
mes cousins et*

*cousines et plus particulièrement Douaa, Hajouj, Insaf, Khalil, Fatima, Chaimaa et Yacin.
mes remerciements à tous ceux que j'ai oublié de nommer.*

Imene



Table de matière

Remerciement.

Dédicace.

Dédicace.

Résumé.

Abstract.

المخلص

Liste des abréviations.

Liste des figures.

I. Triazole	2
I.1. Structure :	2
I.2. Propriétés des composés triazole :	3
I.3. 1, 2,3-triazole.....	3
I.4. 1, 2,4-triazole.....	3
I.4.1. Les propriétés physiques de 1, 2,4-triazoles	4
I.4.2. Applications et des activités biologiques.....	4
I.4.2.1. Applications agricoles	4
I.4.2.2. Applications pharmacologiques.....	5
I.4.2.3. Applications industrielles	6
I.5. LaToxico- cinétique du triazole :	6
I.5.1. Absorption	6
I.5.2. Distribution	7
I.5.3. Métabolisme	7
I.5.4. Élimination	7
I.6. Effets du triazole	7
I.6.1. Effets sur la reproduction	7
I.6.2. Effets sur le développement.....	8
I.6.3. Effets hépatiques.....	8
I.6.4. Effets génétiques.....	9

I.6.5.Effets rénaux	9
I.6.6.Effet sur le système immunitaire	9
II. Le foie	10
II.1.Anatomie morphologique	10
II.1.1.Structure	10
II.1.2.Lobe.....	10
II.1.3.La bile.....	11
II.2.les fonctions hépatiques :	11
II.3. Les fonctions métaboliques du foie	13
II.3.1.Métabolisme des glucides	13
II.3.2.Métabolisme des lipides :	13
II.3.3. Métabolisme des acides amines et des protéines.....	14
II.4.Pathologie	14
III.Matériel et méthodes	15
III.1. L'objectif	15
III. 2 .Animaux d'expérimentation.....	15
III.3 .Synthèse de 5-phényl 1, 2,4-triazole 3-thiol.....	15
III.4.Préparation de la solution d'injection	16
III.5.Répartition des groupes	16
III.6.Evolution du poids corporel et poids des organes	17
III.7.Prélèvement sanguin	17
III.8.Dosage biochimique	17
III.8.1 .Dosage de glucose.....	17
III.8.2.Dosage de cholestérol	18
III.8.3.Dosage de triglycérides	18
III.8.4 .Dosage de bilirubine	19
III.8.5. Dosage des transaminases	19

III.9.Etude histologique des tissus prélevés.....	20
III.9.1.Etude macroscopique	20
III.9.2.Etude microscopique	20
III.9.2.2.Déshydratation	21
III.9.2.3.La clarification	21
III.9.2.4.Imprégnation et inclusion à la paraffine	21
III.9.2.5.Réalisation des coupes	21
III.9.2.6. Coloration :	22
III.9.2.7.Montage des coupes :.....	22
III.10.Expression et analyse statistique des résultats	22
IV. Résultats et interprétations	24
IV.1.La croissance pondérale et le poids des organes	24
IV.1.1.La croissance pondérale.....	24
IV.1.2. Le poids des organes.....	24
IV.1.3.Dosage des paramètres sériques.....	25
IV.1.4.Etude histologique :	28
V.Discussion	31
VI.Conclusion	34
Références bibliographiques	35

Liste des figures

Figure N°1 : Les isomères	2
Figure N°2 : structures de ν -triazole.....	3
Figure N°3 : les s-triazoles.....	3
Figure N°4 : Entrées et sorties du foie: vaisseaux sanguins et canaux.....	12
Figure N°5 : synthèse et devenir du cholestérol dans l'hépatocyte.....	13
Figure N°6 :Synthèse de 5-phényl 1, 2,4-triazole 3-thiol.....	15
Figure N° 7 : protocole expérimental.....	22
Figure N°8 :L'évolution du poids corporel des rats pendant 15 jours d'expérimentation....	23
Figure N° 9 : Comparaison du poids de foie entre les rats traités par khacinothionyl et les rats témoins.....	24
Figure N° 10 :Comparaison de la glycémie entre les rats traités par khacinothionyl et les rats témoins.....	24
Figure N°11 : Comparaison du taux de cholestérol entre les rats traités par khacinothionyl et les rats témoins.....	25
Figure N°12 : Comparaison du taux de triglycéride entre les rats traités par khacinothionyl et les rats témoins.....	25
Figure N°13 : Comparaison du taux de bilirubine entre les rats traités par khacinothionyl et les rats témoins.....	26
Figure N°14 : Comparaison du taux du ASAT entre les rats témoins et les rats intoxiqués par khacinothionyl	26
Figure N°15 : Comparaison du taux du ALAT les rats traités par khacinothionyl et les rats témoins.....	27
Figure N°16 : Examen microscopique du tissu hépatique chez des rats traités par le khacinothionyl et des rats témoins.....	27

Tableau N° 01 : Quelques propriétés physico-chimiques des triazoles.....2

Liste d'abréviations :

ASAT :Aspartateaminotransférase.

ALAT :Alanine aminotransférase.

DMSO: Diméthylsulfoxyde

I.p : intra-péritonéal.

Kg : kilogramme.

Mg : milligramme.

ml : millilitre.

NaOH :L'hydroxyde de sodium,

pKa :Constante d'acidité.

P.c : poids corporel.

H₂SO₄ :L'acide sulfurique.

Teb:température d'ébullition.

Tf:Température de fusion.

Résumé

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet d'une exposition subchronique au 5-phenyl-1,2,4-triazole-3-thiol (Khacinothionyl) sur des jeunes rats Wistar à une dose de 10mg/kg sur le tissu hépatique à travers des paramètres biochimiques et histologiques.

L'exposition subchronique à une dose 10mg/Kg au 5-phenyl-1,2,4-triazole-3-thiol a permis d'observer une réduction significative du poids corporel ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$), chez les rats exposés comparés aux rats témoins.

L'analyse des données révèle une augmentation significative ($p < 0,001$) du poids hépatique chez les rats exposés au 5 khacinothionyl par rapport à celui des rats témoins.

De plus les données statistiques des sujets exposés ont présenté une diminution significative du taux du glucose sanguin, du dosage de bilirubine et une hypocholestérolémie ainsi qu'une diminution de la teneur sérique du triglycéride ($p < 0,001$; $p < 0,05$; $p < 0,001$) respectivement, comparative à celle des rats témoins.

Cependant, l'exposition au Khacinothionyl à une dose de 10mg/Kg a indiqué une augmentation significative ($p < 0,001$) de la concentration sérique en ASAT et en ALAT ($p < 0,001$) chez les rats traités par rapport aux rats témoins.

L'étude histologique a révélé une congestion vasculaire de veine centrolobulaire et sinusoidale accompagnée des dystrophies hépatocytaires à noyaux hyperplasiques.

En conclusion, l'exposition subchronique au Khacinothionyl entraîne des modifications de certains paramètres biochimiques qui reflètent l'influence de ce composé au niveau hépatique.

Mots clés : 5-phenyl-1,2,4-triazole-3 thiol, foie, hépatotoxicité, hypertrophie, transaminase.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of subchronic exposure to 5-phenyl-1, 2,4-triazole-3-thiol (Khacinothionyl) on young Wistar rats at a dose of 10mg / kg on fabric liver through biochemical and histological parameters.

The sub-chronic exposure to a dose 10mg / Kg in 5-phenyl-1, 2,4 triazole -3-thiol allowed to observe a significant reduction in body weight ($p < 0.05$, $p < 0.01$; $p < 0.001$) in exposed rats compared to control rats.

The analysis given indicates a significant ($p < 0.001$) in liver weight in rats exposed to 5 khacinothionyl compared to control rats.

Moreover the exposed statistical data showed a significant decrease in blood glucose levels, and hypocholesterolemia and a decrease in serum triglyceride content ($p < 0.001$, $p < 0.05$; $p < 0.001$), respectively, comparative to that of the control rats.

ANOVA also showed a significant reduction ($p < 0.001$) in the levels of serum bilirubin in animals treated with khacinothionyl compared to control animals.

However, exposure to Khacinothionyl at a dose of 10mg / kg showed a significant increase ($p < 0.001$) increase in serum concentration TGO and TGP ($p < 0.001$) in the treated rats compared to control rats.

Histological study revealed vascular congestion of central vein and sinoide accompanied dystrophies in hyperplastic hepatocyte nuclei.

To conclude, subchronic to Khacinothionyl to lead to changes in some biochemical parameters that reflect the influence of this compound in the liver.

Keywords: 5-phenyl-1, 2,4 triazole-3 thiol, liver, hepatotoxicity, hypertrophy, transaminase.

الملخص :

الهدف من هذه الدراسة هي تقييم تأثير التعرض المزمّن لمدة 30 يوم للتريازول على الكبد بجرعة 10 مغ/كغ من خلال المعايير البيولوجية (البيوكيميائية و النسيجية) عند الجرذان.

التعرض للجرعة 10 مغ/كغ سمح لنا بملاحظة انخفاض كبير في وزن جسم الجرذان. وقد بينت لنا الدراسة الاحصائية ارتفاع ملحوظ في وزن الكبد لدى الفئران التي عرضت للجرعة 10 مغ/كغ .

بالإضافة الى ذلك أظهرت نتائج التحاليل عن وجود انخفاض كبير في مستوى السكر في الدم ، نقص في نسبة الكوليستيرول و انخفاض في تركيز الدهون و ثلاثي الغليسيريدات وارتفاع في النشاطات الانزيمية.

وقد أشارت الدراسة النسيجية للكبد عن وجود اختلال في وظائف الكبد الناتجة عن تأثير التريازول.

و في الختام ، التعرض المزمّن للتريازول قاد الى بعض التغيرات في المعايير البيوكيميائية التي تدل على تأثير هذا المركب على مستوى الكبد.

كلمات البحث: 5-فينيل-1، 4، 2 التريازول-3 ثيول والكبد ، وتضخم، نقص كوليستيرول الدم

Introduction

Dans la nature, il existe des composés chimiques peuvent être d'origine naturelle ou produites par synthèse, dont l'un des éléments chimiques constitutifs est l'élément de carbone. Une recherche de jour est maintenant concentrée vers l'introduction d'agents thérapeutiques nouveaux et sécuritaires d'importance clinique (**Bele et Singhvi,2011**).

La chimie hétérocyclique est devenu un champ distinct de la chimie, la société actuelle et les perspectives d'avenir .Les premiers composés connue de l'humanité étaient d'origine hétérocyclique (**Gjulam ,2009**).

La vie, comme la nôtre, est totalement dépendante des composés hétérocycliques, il prend naissance avec purine / bases pyrimidiques, nourrit sur les hydrates de carbone et en cas de maladie, est durci à partir de médicaments, dont beaucoup sont de nature hétérocyclique. Aujourd'hui, la chimie hétérocyclique offre des réactifs et des méthodes de synthèse de sa propre activité traditionnelle dans la synthèse de médicaments, de pesticides et de détergents ainsi que dans les domaines d'applications tels que la biochimie, les polymères et les sciences des matériaux, Parmi ces hétérocycles le triazole (**Gjulam ,2009**).

Le triazole et ses dérivés représentent une des classes le plus biologiquement actives des composés, possédant une gamme étendue d'activité en raison de leurs structures et leurs propriétés uniques. Le noyau de triazole est associés à l'activité pharmacologique divers tel que l'antibactérien, antifongique, hypoglycémie et en agrochimie (**Hamoir et al.,2001**).

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'effet d'une exposition subchronique au khacinothionyl sur des jeunes rats Wistar on étudiant son impact sur les tissus hépatiques à travers quelques paramètres biochimiques ainsi qu'une approche histologiques.

*Revue
Bibliographiques*

I. Triazole

Le nom triazole est donné au système cyclique d'azote de carbone par Bladin(**Potts,1961**) qui a décrit ces dérivés en 1885. En raison de diverses applications, le triazole a pris une attention particulière notamment pour l'industrie chimique.

Les triazoles sont des composés organiquescyclique comportant un cycle à 5 atomes, comportant deux double liaisons et 3 atomes d'azote et donc de formule brute $C_2H_3N_3$. Elles sont aromatiques et font partie des cycles excédentaires en électrons. Les triazoles sont d'origine synthétique et n'existe pas à l'état naturel(**Bentiss,2006**).

Selon la position des atomes d'azote, on distingue les 1, 2,3-triazoles (appelées V-triazoles) et les 1, 2,4-triazoles (appelées S-triazoles).

I.1.Structure :

- 1, 2,3-triazole ou v-triazole.
- 1, 2,4-triazole ou s-triazoles(**Bentiss, 2006**).



Figure N°1 : Les isomères (Bentiss, 2006).

I.2.Propriétés des composés triazole

Tableau 01 : Quelques propriétés physico-chimiques des triazoles(**Oukessou ,2014**).

Molécule	Tf (°C)	Teb (°C)	Pika
1, 2,3 triazole	23	203	9.4
1, 2,4 triazole	121	260	10.1

I.3. 1,2,3-triazole

Les 1,2,3-triazoles (ν -triazoles) sont des hétérocycles penta-atomiques d'origine synthétique et n'existent pas à l'état naturel, ils possèdent une structure pseudo-aromatique (**figure2**).

Leur moment dipolaire élevé (1.77D pour les 1,2,3-triazoles (**Bentiss, 2006**). La formation d'un cycle 1,2,3-triazole existe depuis les années 1860 et peut se faire de diverses manières. Il peut s'agir d'une condensation entre un composé porteur d'un groupe méthylène activé et un azide. Cette synthèse a été rapportée pour la première fois par **O. Dimroth** et développée par d'autres par la suite (**Mayot, 2007**).

Les 1,2,3-triazoles sont des composés stables et inertes vis-à-vis des réactions d'oxydation, de réduction et d'hydrolyse en milieu biologique. La réaction de légation par des groupements triazoles ait trouvés des multitudes d'applications en chimie médicinale et en biologie moléculaire.

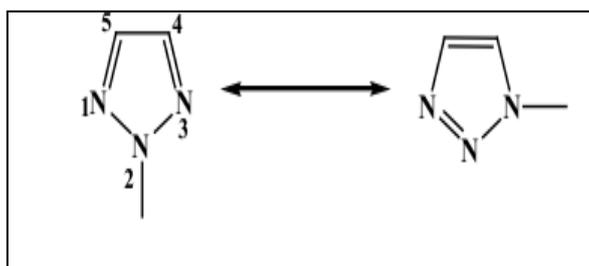


Figure N°2 : structures de ν -triazole (Bentiss, 2006).

I.4. 1,2,4-triazole

Les 1,2,4-triazoles ou les s-triazoles existent sous deux formes tautomères. la dénomination adoptée dans les « Chemical Abstracts » néanmoins celle de 1,2,4-triazole, en précisant sur quel azote se trouve l'hydrogène (**Bentiss, 2006**).

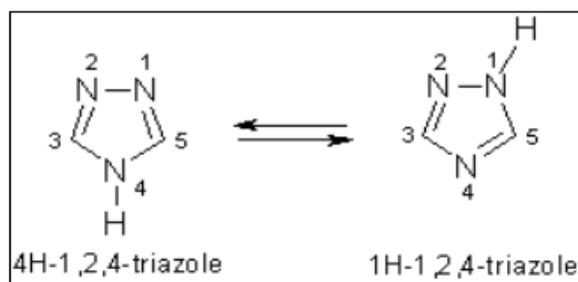


Figure N°3 : les isomères de triazoles (Bentiss, 2006).

Le phénomène de tautomérie caractérisant la structure des 1, 2,4-triazoles s'avère cruciale étant donné qu'il détermine leurs propriétés les plus importantes aussi bien que leur mode de réactivité.

La chimie des triazoles est une chimie de mélange où chacun des deux tautomères réagit individuellement sur les mêmes réactifs (**Bentiss, 2006**).

Le 1, 2, 4-triazole est qui possèdent presque tous les types d'activités biologiques. Cette diversité dans le profil de réponse biologique a attiré l'attention de nombreux chercheurs à explorer ce squelette à son potentiel.

I.4.1. Les propriétés physiques de 1, 2,4-triazoles

Presque tous les 1, 2,4-triazoles sont :

- solides à la température ambiante.
- Ils ont une couleur allant de blanc au brun foncé.
- Ils sont pour la plupart solubles dans des solvants polaires comme l'éthanol, le chloroforme, le diméthylsulfoxyde et le diméthylformamide.
- Insolubles dans les solvants non polaires comme les éthers, etc.
- Solubles à la fois dans des milieux acides et basiques en raison de la formation de sel par protonation et déprotonation, respectivement.

I.4.2. Applications et des activités biologiques

Le 1, 2,4-triazole et ses dérivés sont une classe importante de composés qui possèdent des activités agricoles, industrielles et biologiques diverses (**Mohan et Indian, 1983**). Au cours des dernières années, la synthèse de ceux-ci a reçu une attention considérable (**Zamani et al. 2003**).

I.4.2.1. Applications agricoles

Dans la technologie de protection des végétaux, la recherche a été promue découvrir des pesticides plus efficaces pour s'attaquer à de nouveaux problèmes difficiles. En ordre pour commander sélectivement la croissance de mauvaises herbes, toute une gamme d'herbicides de type azole a été élaboré (**Grambaryan et al. 1983**) présentant des niveaux élevés d'activité, la flexibilité d'application, la tolérance des cultures et de faibles niveaux de toxicité

pour les mammifères. Les triazoles jouent un rôle important au sein de cette classe d'hétérocycles. Une série de 1, 2,4-triazole dérivés ont été brevetées et largement utilisé (**Vamvakide, 1990**).

I.4.2.2.Applications pharmacologiques

Au cours des dernières décennies, les propriétés biologiques et pharmaceutiques des 1, 2,4-triazoles ont suscité un intérêt considérable dans leur synthèse et leur caractérisation (**Demirbas et al., 2002**). 1, 2,4-triazole et ses dérivés possèdent très différentes activités par exemple :les antimicrobiennes (**El-masry et al., 2000**), sédatif (**Holla et al., 2003**), anticonvulsivant(**Holla et al., 2003**), anticancéreuses(**Duran et al., 2002. Parmar et al., 1974**),anti-inflammatoire (**George et al., 1971**), diurétique (**Shah et al., 1969**), antibactérien (**Abdou et al., 1990**), hypoglycémique (**Mhasalkar et al.,1970**), antituberculeux (**Mir et al., 1970**) et antifongique (**Mishra et al., 1991**), bactéricide (**Patil et al., 1984**), antivirale (**Somerai et al ., 1986**),myorelaxant (**Kane et al., 1988**) et le virus de l'immunodéficience antihumaine (VIH) (**Velaquez et al., 1998**).

Les infections fongiques sont fréquentes chez les personnes avec des hôtes immunodéprimés, tels que les patients subissant une chimiothérapie ou une transplantation d'organe et les patients atteints anticancéreux.

L'agent antifongique commune utilisés actuellement dans la clinique sont les azoles (comme le fluconazole, le kétoconazole,etitraconazole), polyènes (tels que l'amphotéricine B) nystatine (**Arikan et al ., 2001**), échinocandines (tels que la caspofungine), la micafungine (**Denning et al., 2002**)et allylamines (par ex: naftifine et terbinafine) (**Birnbaum, J. E., 1990**).

La deuxième génération d'azoles tels que le voriconazole (**Chandrsekhar et al., 2001**), Posaconazole (**Herbrecht, 2004**)et ravuconazole (**Arikan et al., 2002**), ont été développés avec une amélioration de profils. Ils sont connus pour leur large spectre antifongique, faible toxicité, et profils pharmacodynamiques améliorées.

Triazoleglycosylé comme une β -D- ribofuranosyl- [1 H] -1, 2,4-triazole-3-carboxamide (Virazol) (**Schmidt et al ., 1981**) appartenir à des médicaments très puissants contre ADN et ARN des virus (**Hanna et al., 1988**). De plus, ce composé présente une activité antitumorale(**Witkowski et al., 1972**).

I.4.2.3. Applications industrielles

a. Industrie chimique

Certains triazoles choisis ont été utilisés comme d'iodes électroluminescents (dispositifs électroluminescents) (Adachi et al., 2001).

En outre, ces composés sont utilisés comme des colorants synthétiques et d'agents blanchiment (Akira et al., 1973). En revanche, les encres ayant des propriétés d'écriture lisses contiennent également les dérivés du triazole, par exemple, 3-amino-5-mercapto-1, 2,4-triazole (Stephanyan et al., 1966).

Ces composés ont été également signalés comme des inhibiteurs de corrosion du cuivre, laiton, aluminium et acier en milieu marin (Kotone et al., 1974) et inhiber la formation de brouillard dans des émulsions photographiques (Schofield et al., 1976), des inhibiteurs de croissance des végétaux (Lixue et al., 1990) et herbicides (Gambaryan et al., 1983).

b. Industrie textile

Les dérivés de triazole ont de nombreuses applications dans l'industrie textile par exemple, sel de sodium d'un dérivé de triazole sulfonés possède bon détergent action et aminotriazoles N-benzylés ont des propriétés utiles dans l'inhibition de la décoloration de colorant acide (Grimmel et al., 1951).

c. industrie du coton

Dans l'industrie du coton, 3-amino-1, 2,4-triazole sous son nom commercial Amizol, a été utilisé comme défoliant commercial depuis de nombreuses années (Alen et al., 1954).

I.5. La Toxicocinétique du triazole

Les triazoles ont été utilisés comme des médicaments en qualité d'antifongique avec une toxicocinétique plus au moins complexe, à ce propos on a pris comme exemple le myclobutanil étant donné que sa structure présente une certaine similitude avec le khacinotionyl.

I.5.1. Absorption

Après administration par voie orale, le myclobutanil est rapidement absorbé chez le rat et la souris. La comparaison de l'excrétion urinaire du myclobutanil après administration unique d'une faible dose (1 mg/kg) par voie orale et par voie intraveineuse montre que sa biodisponibilité atteint 100 % en 96 heures chez le rat (Jargot et al., 2014).

I.5.2. Distribution

Le myclobutanil est largement distribué dans l'organisme, principalement dans le foie, les reins, les surrénales et l'intestin. Aucune accumulation significative n'est observée 96 heures après l'administration (Jargot et al., 2014).

I.5.3. Métabolisme

Le myclobutanil est largement métabolisé : de faibles quantités de myclobutanil sous forme inchangée sont retrouvées dans les urines et les fèces après administration par voie orale chez le rat. Le myclobutanil ne se clive pas et la voie de biotransformation majeure consiste en une oxydation de la chaîne latérale butyl (Jargot et al., 2014).

I.5.4. Élimination

Chez le rat, une grande partie du myclobutanil est excrétée en proportion équivalente dans les urines et les fèces en 24 à 48 heures. 96 heures après l'administration d'une faible dose (1 mg/kg) ou d'une forte dose (100 mg/kg), plus de 80 % de la dose administrée est excrétée : 35-48 % dans les urines et 31-44 % dans les fèces (Jargot et al., 2014).

I.6. Effets du triazole

Les triazoles ont été associés à un certain nombre d'effets indésirables des événements et des interactions médicamenteuses importantes.

Par conséquent, il est important de comprendre le métabolisme et les effets secondaires de triazoles (Neofytos et al., 2010).

I.6.1. Effets sur la reproduction

La reprotoxicité est généralement observée à des doses toxiques parentérale comprend la fertilité (EPA, 2006) des changements morphologiques du sperme, baisse des sites d'implantation et infertilité (ANSES, 2011), dystocie, une survie réduite et la mortalité périnatale réduite les résultats montrent un retard dans les étapes du développement par exemple : la maturation sexuelle et une diminution du poids des portées. D'autres études notent aussi une diminution du poids corporel des fœtus, une augmentation des malformations et des variations squelettiques, en plus une réduction du gain de poids corporel. L'observation au cours du développement montre des changements dans les organes reproducteurs (les testicules et les ovaires) (EPA, 2006), et une perturbation de l'homéostasie de testostérone comme un événement clé dans le mode d'action de toxicité (Goetz et Dix, 2009). Une augmentation des corps jaunes (ANSES, 2011). Les effets toxiques sont rapportés pour

bitertanol, le cyproconazole, l'époxiconazole, le fenbuconazole, flusilazole, flutriafol, metconazole, myclobutanil, penconazole, le prothioconazole, le tétraconazole, triadimenfon, triadiménol et le triticonazole.

I.6.2. Effets sur le développement

Dans une certaine mesure de toxicité pour le développement le 1, 2, 4- triazole montre un retard du développement mental (**Menegola et al., 2005**). Chez les descendants, ils ont constatés une incidence accrue de taille du fœtus plus une diminution de la prise pondérale et la consommation alimentaire, ainsi qu'une augmentation de la consommation d'eau (**PRD, 2012**). L'exposition à long terme a montré les effets suivants : incidence accrue d'incisives pâles et blanchies, hypertrophie osseuse et épaissement des os du crâne, une dépression dorsale ainsi qu'une dilatation des ventricules du cerveau attribuable à la croissance excessive des os du crâne (**PRD, 2012**).

I.6.3. Effets hépatiques

Le mécanisme de la toxicité hépatique de triazoles caractérisé plusieurs effets sur le foie, à des degrés divers ont été identifiés, agissent comme des ligands pour les récepteurs nucléaires hétérodimérisé avec d'autres récepteurs (**EFSA, 2009**), augmentant la transcription de plusieurs enzymes CYP y compris les membres CYP2B et CYP3A. L'hépatotoxicité se manifeste d'abord par une augmentation du poids et une hypertrophie hépatocellulaire centrolobulaire et de la cytotoxicité. Ce dernier effet est transitoire probablement en raison d'une adaptation métabolique du foie.

D'autres dérivés produits une élévation de l'activité hépatique des transaminases (**IPCS, 1985**). D'autres études ont notés une accentuation de l'aspect lobulaire, foyers éosinophiles dans les hépatocytes, foyers sous-capsulaires pâles ou foncés, ainsi que modifications des canaux biliaires et des sinusoides et une modification du métabolisme lipidique suite à une exposition chronique (**Chen et al., 2008**).

Chez les rongeurs une conséquence de l'activation des récepteurs nucléaires tels que la voiture est l'hyperplasie hépatique, ce qui pourrait expliquer une partie des effets des triazoles rapporté dans le foie. L'activité fongicide de triazoles est une conséquence de leur inhibition directe de CYP51 (l'anoostérol-14-alpha-déméthylase). Chez les mammifères, CYP51 est située dans la voie conduisant à la biosynthèse du cholestérol qui est le principal stérol dans la membrane cellulaire des mammifères et est requis pour le sexe hormone stéroïde et synthèse de la vitamine D. Les triazoles peuvent également inhiber plusieurs autres enzymes du

cytochrome P450, y compris les membres des CYP1A, CYP2C et CYP3A sous-familles, ainsi que CYP19 et CYP26 (EFSA, 2009).

I.6.4. Effets génétiques

Les triazoles affectent l'expression de plusieurs gènes impliqués dans le métabolisme des hormones (Tully et al., 2006 ; Goetz et al., 2006). Certains auteurs ont observés une diminution du poids des surrénales et perturbation des concentrations d'hormones (stéroïdes, thyroïdiennes et hypophysaires) dans le sang qui constituent les indicateurs les plus sensibles d'une perturbation endocrinienne chez le rat (PRD, 2012).

I.6.5. Effets rénaux

Certains dérivés de triazole, provoquent une diminution du poids des reins, une augmentation des concentrations ioniques du sang et une augmentation de l'incidence accrue de cristaux et de minéralisation, des tubules dilatés ou dégénérés ainsi que une fibrose interstitielle (REG, 2007). D'autres dérivés du triazole induit des effets durables tels que, pyélite accrue, basophilie des tubules corticaux et légers changements de la chimie urinaire (PRD, 2012).

I.6.6. Effet sur le système immunitaire

Dans le cadre des études de l'immunotoxicité chronique chez le rat, il a été observé une augmentation de lymphocytes T, cellule B et modification du pourcentage de la population de lymphocytes dans la rate, les reins et le foie (Nikolayev et al., 2001). D'autres études montrent une augmentation du nombre de globules blancs, une légère diminution du nombre de cellules formant des anticorps (Faro, 2010).

II. Le foie

II.1. Anatomie morphologique

II.1.1. Structure

Le foie est la glande la plus volumineuse du corps, lisse, souple, et brun rouge, est divisé en quatre lobes, qui sont composés d'une quantité de lobules contenant des cellules hépatique (**Leguerrier ,2000**).

II.1.2. Lobe

L'unité structurale et fonctionnelle du foie est le lobule hépatique. Le lobule hépatique est constitué de lames d'hépatocytes anastomosées limitant des espaces sinusoidaux sanguins. Une veinule (ou veine) centrale située au cœur du lobule hépatique collecte le sang des sinusoides contenant un mélange de sang apporté par les branches de la veine porte et de l'artère hépatique (**Kierszenbaum,2002**).

La bile produite dans les hépatocytes est sécrétée dans d'étroits espaces intercellulaires, les canalicules biliaires, situés entre les faces opposées des hépatocytes adjacents (**Kierszenbaum,2002**).

Le Foie se divise en quatre lobes inégaux ; le lobe hépatique droit est le plus volumineux, le lobe hépatique gauche est la partie la plus étroite de l'organe. Entre ces deux lobes majeurs, on distingue le lobe carré et le lobe caudé. La vésicule biliaire est attachée au foie à la limite du lobe carré et du lobe hépatique droit.

Chaque lobe du foie est divisé en segments; on compte 8 segments en tout. Ces divisions anatomiques sont importantes pour les interventions chirurgicales : lorsqu'une partie du foie est endommagée et doit être extraite.

Chaque lobule est constitué de milliers de cellules hépatiques. Elles sont organisées de façon complexe pour assurer d'une part la production et l'écoulement de la bile, et d'autre part les échanges avec le sang (**Oriana ,2015**).

Vascularisation

Le foie est un des organes les plus densément vascularisés du corps humain. Il contient plus de 10% du volume sanguin total du corps, et il est traversé par 1,4 litre de sang en moyenne à chaque minute.

Le foie reçoit le sang de deux vaisseaux majeurs : l'artère hépatique et la veine porte. En pénétrant dans le foie, ces vaisseaux se divisent jusqu'à former un très dense réseau de vaisseaux extrêmement fins (**Oriana**, 2015).

II.1.3.La bile

La bile est un produit important des hépatocytes de couleur jaune verdâtre produite par le foie et stockée dans la vésicule biliaire. Cette substance intervient dans la digestion des aliments (surtout des graisses) lors de leur passage dans le duodénum. Ces aliments sont surtout les acides biliaires et les sels biliaires qui constituent les composants émulsifiants de la bile.

La bile possède quatre fonctions principales:

1. excrétion de cholestérol, de phospholipides, de sels biliaires, de bilirubine conjuguée et d'électrolytes.
2. contribution à l'absorption des graisses dans la lumière intestinale.
3. transport d'Ig A vers la muqueuse intestinale par l'intermédiaire de la circulation entéro-hépatique.
4. excrétion de produits métaboliques des médicaments et des métaux lourds transformés dans l'hépatocyte (**Kierszenbaum,2002**).

II.2.les fonctions hépatiques

Le foie effectue près de 500 fonctions vitales. Il est placé entre le tube digestif et le reste de l'organisme ; Il joue un rôle dans la digestion, le métabolisme des sucres et des gras et dans le système de défense immunitaire du corps (**Liz et Alen ,2004**).

Les principales fonctions du foie sont :

1. La collecte de composants alimentaires qui sont conduits du tractus digestif jusqu'au foie par la veine porte (**Koolman et Rohm ,2004**).
2. La biosynthèse de composés propres à l'organisme, leur stockage, leur transformation et leur dégradation en molécules excrétables (métabolisme) (**Koolman et Rohm ,2004**).
3. L'approvisionnement de l'organisme en substrats énergétiques et en précurseurs fournissant au corps l'énergie qui lui est nécessaire. Il régularise la production, le stockage et la libération des sucres, des graisses et du cholestérol(**Koolman et Rohm,**

2004).

4. La détoxification de composés toxiques par biotransformation (**Koolman et Rohm ,2004**):

Le foie joue un rôle crucial dans la détoxification des substances qui sont nuisibles pour le corps, par une transformation et une évacuation des sous-produits toxiques du métabolisme normal (comme l'ammoniaque) et les excès d'hormones (en particulier, les hormones sexuelles comme l'estrogène)(**Liz et Alen ,2004**). Plusieurs médicaments, y compris les médicaments d'usage courant en vente libre, comme l'acétaminophène (Tylénol),La plus part des médicaments anti-VIH et certaines plantes médicinales sont transformées par le foie et peuvent causer des atteintes hépatiques (**Liz et Alen ,2004**).

5. L'excrétion de composés dans la bile

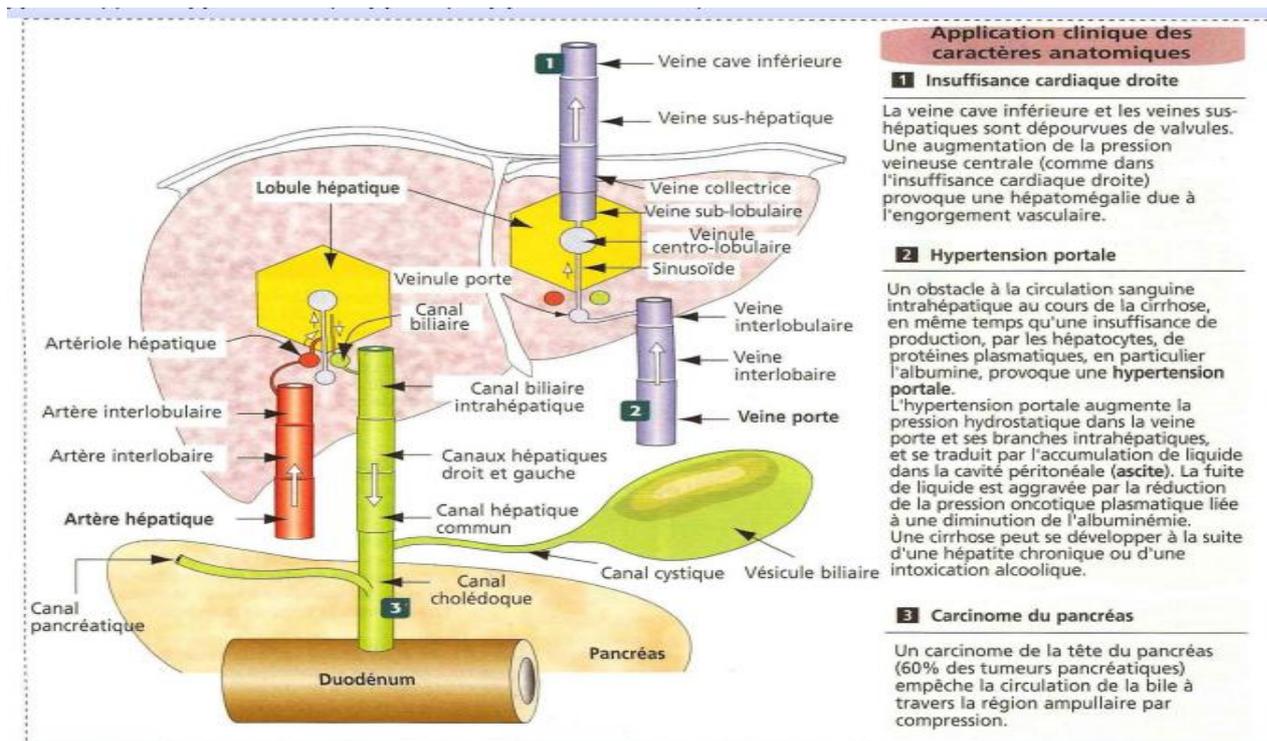


Figure N°4 : Entrées et sorties du foie: vaisseaux sanguins et canaux

(Kierszenbaum, 2002).

II.3. Les fonctions métaboliques du foie

II.3.1.Métabolisme des glucides

A coté des acides gras et des corps cétoniques , le glucose est le plus important fournisseur d'énergie de l'organisme.

Sa concentration dans le sang « glycémie » est maintenue constante autour de 4 –6 mm (0,8 – 1,0 g L-1) grâce à une régulation précise des processus fournissant du glucose. Le foie joue le rôle de « glucostat ».

Le foie est également capable de former du glucose a partir de transformation d'autres sucres p. Ex., fructose et galactose ou de le synthétisé a partie des produits du métabolisme. La transformation de lactate en glucose Dans le cycle Cori et d'alanine en glucose via le cycle alanine jouent un rôle particulier approvisionnement des érythrocytes et des muscles (Koolman et Rohm ,2004).

II.3.2.Métabolisme des lipides

Le foie est le principal organe de synthèse et d'élimination du cholestérol (fig. 5).les hépatocytes synthétisent du cholestérol à partir de l'acétylCoA ; cette synthèse est contrôlée par l'apport alimentaire en cholestérol.

Le cholestérol en excès présent dans la circulation sanguine est capté par le foie par des récepteurs spécifiques, situés sur la membrane sinusoidale des hépatocytes, pour trois lipoprotéines plasmatiques : les vestiges de chylomicrons, les LDL et les HDL. Le cholestérol présent dans l'hépatocyte peut être stocké dans les membranes cellulaires ou sous forme d'esters de cholestérol, utilisé pour la synthèse des sels biliaires, incorporé dans les lipoprotéines HDL ou VLDL, ou éliminé directement dans la bile. (Fig. 5)

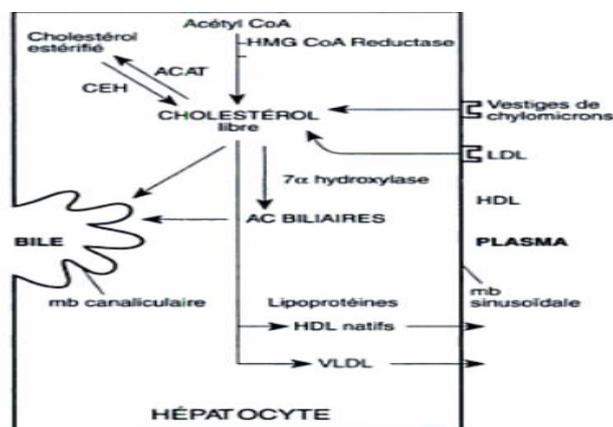


Figure N°5 : synthèse et devenir du cholestérol dans l'hépatocyte.

Le foie est également un organe clé du métabolisme de triglycérides et des phospholipides : l'hépatocyte synthétise les apoprotéines nécessaires à l'élaboration des lipoprotéines plasmatiques, l'enzyme plasmatique lécithine/cholestérol cyl-transférase (LCAT) qui permet l'estérification du cholestérol et la formation des HDL matures dans le plasma. Les lipoprotéines VLDL et HDL assemblées dans le foie sont sécrétées dans le plasma. L'hépatocyte possède les voies de la synthèse et l'hydrolyse des triglycérides et des phospholipides, qui peuvent être incorporés dans les lipoprotéines ou sécrétés dans la bile. Enfin les acides gras libres sont utilisables par l'hépatocyte comme substrat énergétique, par beta-oxydation mitochondriale (Ader et al., 2006).

II.3.3. Métabolisme des acides aminés et des protéines

Le foie contrôle le niveau d'acides aminés dans le plasma. Il dégrade ainsi les acides aminés en excès, dont l'azote est transformé en urée et excrété par le rein. Le squelette carboné des acides aminés aboutit au métabolisme intermédiaire et sert à la synthèse de glucose ou à la fourniture de l'énergie. Par ailleurs la majeure partie des protéines plasmatiques sont synthétisées et dégradées dans le foie (Koolman et Rohm, 2004).

- a. **Biotransformation**: les hormones stéroïdes, la bilirubine, ainsi que les médicaments, l'éthanol, et d'autres xénobiotiques sont captés par le foie, inactivés au cours de la réaction de transformation et transformés en métabolites plus polaires (Koolman et Rohm, 2004).
- b. **Stockage** : le foie met en réserve pour l'organisme non seulement des substrats énergétiques et des monomères, mais également des éléments minéraux, des oligo-éléments et des vitamines, parmi lesquels le fer, le rétinol et les vitamines A, D et K, l'acides foliques et la vitamine B₁₂ (Koolman et Rohm, 2004).

II.4. Pathologie

Le terme d'hépatite est utilisé pour désigner toute inflammation du foie.

Une hépatite est une maladie qui se caractérise par la destruction des cellules du foie, causée par un virus, l'alcool ou un médicament. Les hépatites peuvent provoquer fibrose, cirrhose, ou cancer du foie (Pitot, 2007).

–Nécrose hépatique massive: virale, toxique.

Matériel et méthodes

III.1. L'objectif

Le but de ce travail est d'évaluer l'effet du khacinothionyl sur le fonctionnement hépatique suite a une exposition subchronique selon une approche biochimique et histologique, chez des jeunes rats *Wistar*.

III. 2 .Animaux d'expérimentation

Les expériences sont réalisées sur des jeunes rats *Wistar* âgés de 50 ± 3 jours (après sevrage), d'un poids corporel moyen de 70 ± 5 g. Les animaux séjournent dans l'animalerie du département de biologie à Saida, à une température ambiante, dans des cages conventionnelles, munies d'une mangeoire et d'un biberon rempli d'eau du robinet. Un éclairage artificiel établit un cycle jour/nuit (entre 7 et 19h). Ils ont libre accès à une nourriture.



Figure N°6 : les rats d'expérimentation

III.3 .Synthèse de 5-phényl 1, 2,4-triazole 3-thiol

Les hétérocycles 1, 2,4-triazoles 3-thiones ont été synthétisés au laboratoire PFE, par l'intermédiaire hydrazide de l'acide benzoïque. L'acide benzoïque est subit une estérification par le méthanol absolu en présence d'une quantité catalytique de l'acide H_2SO_4 concentré. Le benzoate de méthyle (**1**) obtenu est ensuite traité avec de l'hydrazine hydraté à dans l'éthanol absolu comme solvant ce qui a abouti à la formation de benzohydrazide correspondant (**2**).

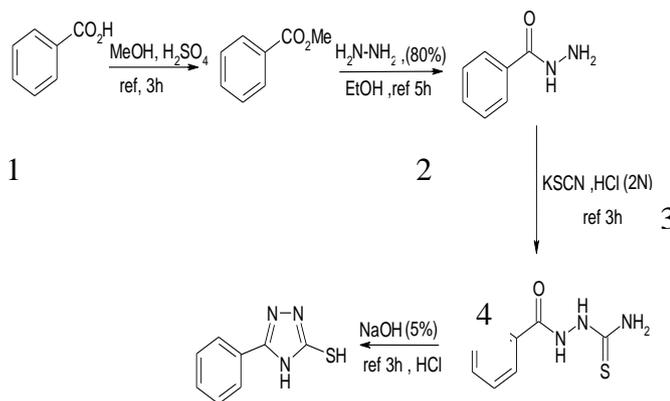


Figure N°7: Synthèse de 5-phényl 1, 2,4-triazole 3-thiol (khacinothionyl)

L'acylthiosemicarbazide(3) est préparé par addition nucléophile de benzohydrazide(2) sur le thiocyanate de potassium en milieu acide chlorhydrique pour donner l'acylthiosemicarbazides avec un bon rendement. La Cyclisation intramoléculaire de cette intermédiaires acylthiosemicarbazides(3) dans une solution d'hydroxyde de sodium NaOH (4%) sous reflux conduit a la formation de 5-phenyl 1, 2,4-triazoles 3-thiols (4) .

III.4.Préparation dela solution d'injection

Notre produit a été obtenu après une synthèse par Mr Benali et Mr Ouissi au niveau du laboratoire de chimie organique de l'université de Saida. Cet élément chimique est élaboré sous forme solide et solubilisé dans diméthyle sulfoxyde(DMSO).Le 5-phenyl 1, 2,4-triazoles 3-thiolsous forme liquide est utilisé pour les injections.

III.5.Répartition des groupes

A JO de sevrage, les rats sont divisés en deux lots :

- **Lot 1** : témoin : constitué d'animaux dont on injecte l'eau physiologique par voie intrapéritonéale (n=7 rats).
- **Lot 2**:khacinothionyl: les jeunes rats sont traités subchroniquement par khacinothionyl à raison de (10 mg/kg)(M. Santanaa et al .,2009) et cela par une injection intra-péritonéale pendant 30jours (n=7).

III.6.Evolution du poids corporel et poids des organes

Le poids corporel de chaque rat a été noté chaque jour durant la durée de traitement (30 jours) ensuite, nous avons procédé au sacrifice de ces rats et le poids du foie des trois lots a été enregistré.



Figure N°8: le foie des rats

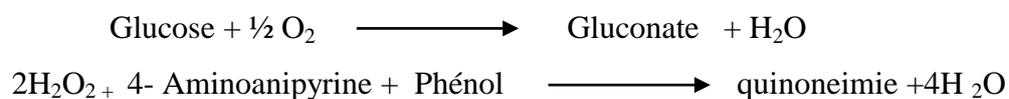
III.7.Prélèvement sanguin

Le sacrifice des jeunes rats, a lieu le matin après un jeûne de 12 heures, par décapitation et cela après une injection intra péritonéale d'une solution chloral ($C_2H_3Cl_3O_2$), à 10% (4mg/Kg de poids corporel); le sang est récupéré, dans des tubes EDTA pour les analyse hématologique et héparines pour les analyse biochimique, les organes sont récupérés et pesés.

III.8.Dosage biochimique

III.8.1 .Dosage de glucose (Bio Systems)

Le dosage du glucose est effectué sur le sérum après séparation du sang. Le glucose sanguin est estimé selon les réactions couplées suivantes :



Un complexe coloré est estimé par spectrophotomètre à une longueur d'onde $\lambda = 500$ nm.

III.8.4 .Dosage de bilirubine (Spinreact)

La bilirubine réagit avec l'acide sulfaniliquediazoté à pH acide pour produire l'azobilirubine. Cette réaction est instantanée avec la bilirubine directe (la bilirubine conjuguée), par contre avec la bilirubine totale (bilirubine non conjuguée) elle est indirecte nécessite la solubilisation par le diméthylsulfoxyde (DMSO) (En absence de DMSO, seule la bilirubine directe réagit).

L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de la bilirubine dans l'échantillon (Kaplan et al., 1984). La concentration de la bilirubine est calculée par la formule suivante :

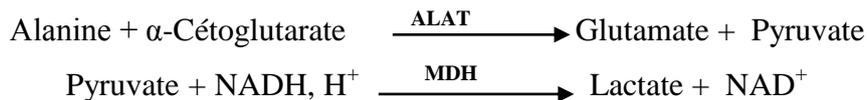
$$\text{Bilirubine direct} = \frac{\text{DO}_{\text{échantillon}} - \text{DO}_{\text{blanc échantillon}}}{\text{DO}_{\text{calibrant}} - \text{DO}_{\text{blanc calibrant}}} \times \text{concentration de calibrant}$$

III.8.5. Dosage des transaminases

III.8.5.1. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT) (Spinreact)

L'alanine aminotransférase (ALAT) appelée aussi le pyruvate de glutamate transaminase (TGP) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'alanine au α -cétoglutarate formant le glutamate et le pyruvate. Le pyruvate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH, H⁺ (Murray, 1984).

Ce principe est présenté selon la réaction suivante :



III.8.5.2. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT) (Spinreact)

L'aspartate aminotransférase (ASAT) appelée aussi l'oxaloacétate de glutamate transaminase (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate au α -cétoglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate.

L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH, H⁺ (Murray, 1984) selon la réaction ci-dessous :





III.9. Etude histologique des tissus prélevés

Les examens anatomopathologiques des différents tissus prélevés chez les rats (à savoir le foie) ont été effectués au niveau du laboratoire de pathologie de l'université de Tiaret Ibn Khaldoun.

III.9.1. Etude macroscopique

L'examen macroscopique détaillé est une partie essentielle de l'étude des échantillons prélevés. Le tissu du foie est examiné, mesuré, pesé, palpés puis disséqué. Chaque lésion est repérée sur un schéma et éventuellement photographiée.

L'examen macroscopique des prélèvements donne des indications sur la lésion

- La taille et la localisation de la partie lésée au niveau du tissu.
- Il permet de sélectionner les territoires à prélever pour l'étude microscopique (Zones lésées).
- Après le choix des prélèvements destinés à l'analyse microscopique, les restes de la pièce analysée sont conservés pendant quelques jours ou semaines afin de pouvoir en cas de nécessité effectuer des prélèvements complémentaires.

III.9.2. Etude microscopique

La technique de base comporte plusieurs étapes : Fixation, déshydratation, clarification, inclusion en paraffine, réalisation des coupes et colorations, observation au microscope optique.

III.9.2.1. Fixation

Elle est indispensable pour conserver la morphologie cellulaire, elle doit être immédiate après l'obtention de prélèvement. Toute fixation défectueuse rend l'étude anatomopathologique difficile voire impossible (densification ou autolyse du tissu).

La durée de la fixation dépend de la taille du prélèvement ; entre 2 à 5 heures et 48 heures.

Le fixateur le plus habituellement utilisé est l'alcool formol à 10 %. Des précautions doivent être prises au cours de cette étape de la fixation, comme par exemple ; le volume du fixateur (formol) doit représenter 10 fois le volume de la pièce.

III.9.2.2. Déshydratation

Après fixation, les tissus sont déshydratés dans 2 bains de formol (1h30 pour chaque bain) ensuite tromper dans 4 bains successifs d'alcool chirurgicale (1h30 dans chaque bain) à la fin les tissus sont mis dans 2 bains d'acétone (1h30 dans chaque bain).

III.9.2.3. La clarification

Cette opération est effectuée après la déshydratation, les pièces sont placées dans 2 bains de toluène (1h30 dans chaque bain).

III.9.2.4. Imprégnation et inclusion à la paraffine

On utilise la paraffine comme milieu d'inclusion et d'enrobage. La paraffine, de point de vue chimique, est un mélange d'hydrocarbures saturés et d'un faible pourcentage de cires. L'inclusion est une véritable imprégnation du tissu prélevé à l'échelle cellulaire et non seulement un simple enrobage. Le prélèvement tissulaire, ayant achevé leur fixation dans le formol et leur déshydratation dans une série de bains d'alcools, sera déposé directement dans des cassettes en plastiques. Puis la paraffine est coulée sur le prélèvement tissulaire en prenant soin d'orienter convenablement le prélèvement. La paraffine imprègne le tissu, et serait laissée refroidir. Une fois la paraffine refroidie, les cassettes marquées et les blocs sont prêts à la coupe.

III.9.2.5. Réalisation des coupes

L'appareil utilisé est le microtome à paraffine (Marque : Leica 1510). Il comporte :

- Un support de rasoir.
- Un porte objet où sera inséré le bloc.
- Un système d'avance mécanique permettant le déplacement de l'objet en direction du rasoir.
- Un bouton gradué de 0 à 3 μ réglant l'épaisseur de la coupe.

Le bloc solide de paraffine contenant le tissu est coupé grâce au microtome (épaisseur de la coupe est réglée à 5 μ). Les coupes sont étalées sur des lames en utilisant de la chaleur qui permettra leurs dilutions, puis sont collées par une eau albumineuse chauffée sur les mêmes lames.

III.9.2.6. Coloration

Avant de procéder à la phase de coloration des coupes, on doit réaliser plusieurs étapes de déparaffinage.

- la 1ere étape consiste à un déparaffinage des lames ou des coupes sur une plaque chauffante.

- la 2eme étape de déparaffinage consiste à faire passer ces coupes dans une solution de xylène.
- la 3eme étape est la dissolution de la paraffine par hydratation qui consiste à éliminer le milieu d'inclusion et la réhydratation des tissus dans 03 bains d'alcools (absolu à 100°, 95°, 75°) de 5 min chacun.
- Rinçage à l'eau pour éliminer l'alcool.

La coloration usuelle associe :

- un colorant basique nucléaire (Hématoxyline).
- un colorant acide cytoplasmique (Eosine, érythrosine, ou phloxine).

La phase de coloration des coupes déparaffinées à l'hématoxyline éosine nécessite le passage de ces coupes dans plusieurs bains d'alcool et de solvants organiques.

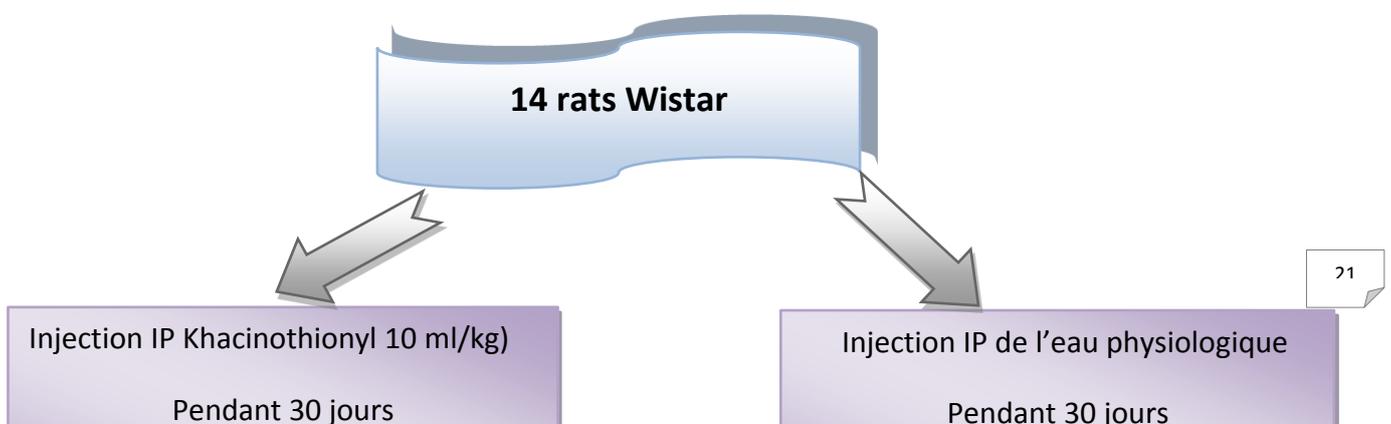
III.9.2.7.Montage des coupes

- la coupe colorée est protégée par une lamelle de verre collée.
- il est nécessaire d'interposer entre la lame et la lamelle un milieu de montage.
- le milieu de montage utilisé est un liquide d'inclusion rapide (Eukite)
- une goutte de cette résine est déposée sur la lamelle puis appliquée.
- après montage des coupes, les lames seront déposées dans une étuve pour un séchage d'une heure.
- les lames seront enfin prêtes à l'observation microscopique et peuvent être conservées indéfiniment.
- Les coupes, colorées à l'hématoxyline éosine, sont examinées aux grossissements $\times 40$.

III.10.Expression et analyse statistique des résultats

Les résultats sont exprimés par la moyenne (M) des valeurs individuelles, affectées de l'erreur standard à la moyenne (S.E.M). La comparaison de deux moyennes est effectuée par un test t de Student. La comparaison de plusieurs moyennes est effectuée par une analyse de variance (ANOVA) avec le facteur traitement (Triazole, Solvant).

Une probabilité $p < 0,05$ est considérée significative. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel SigmaStat3.5 .



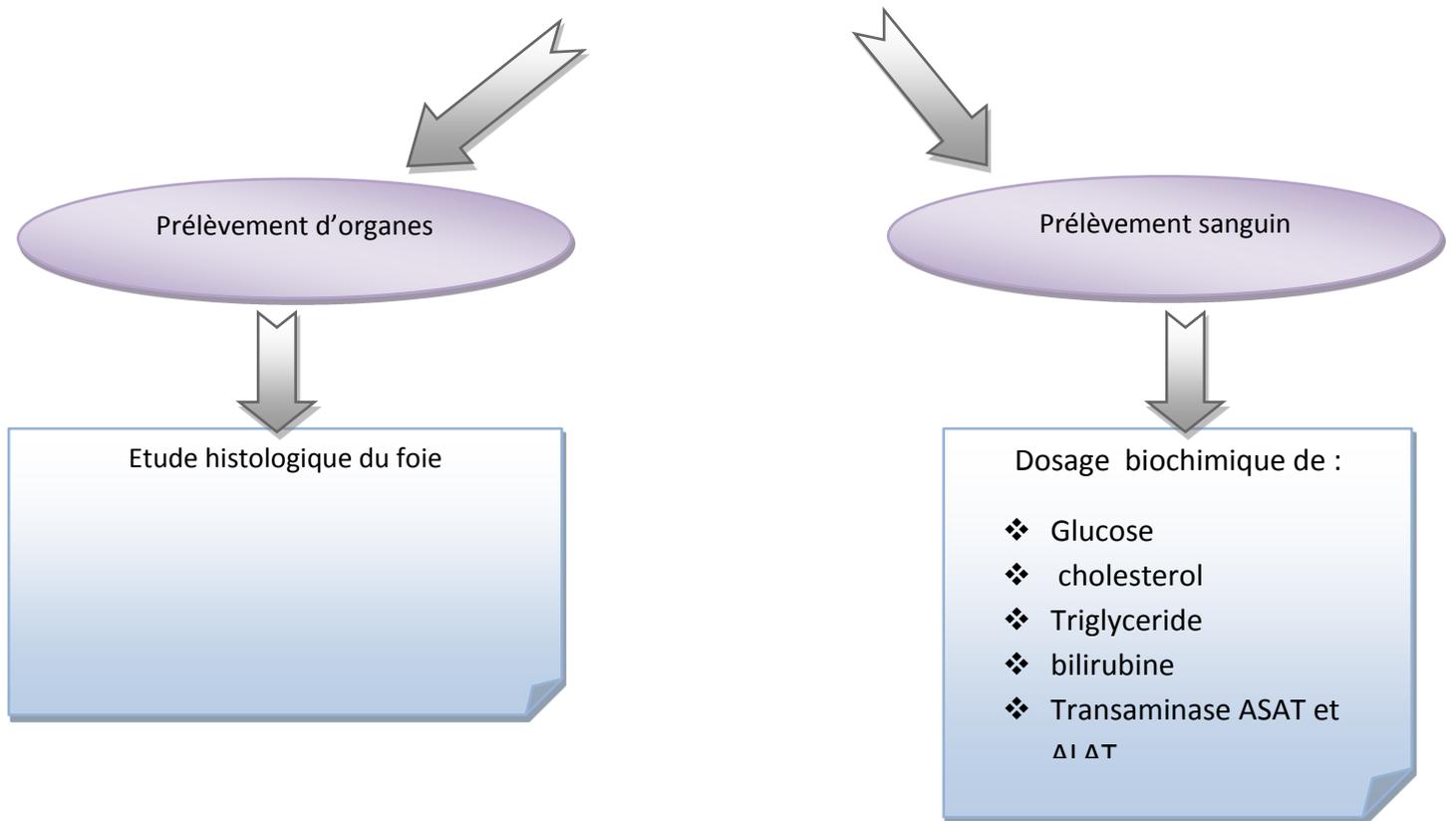


Figure N° 9 : protocole expérimental.

Résultats et interprétations



IV.1. La croissance pondérale et le poids des organes

IV.1.1. La croissance pondérale

Les résultats représentés dans la figure (10) montrent que le poids corporel des rats exposés au khacinothionyl est significativement inférieur ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$) à celui des rats témoins.

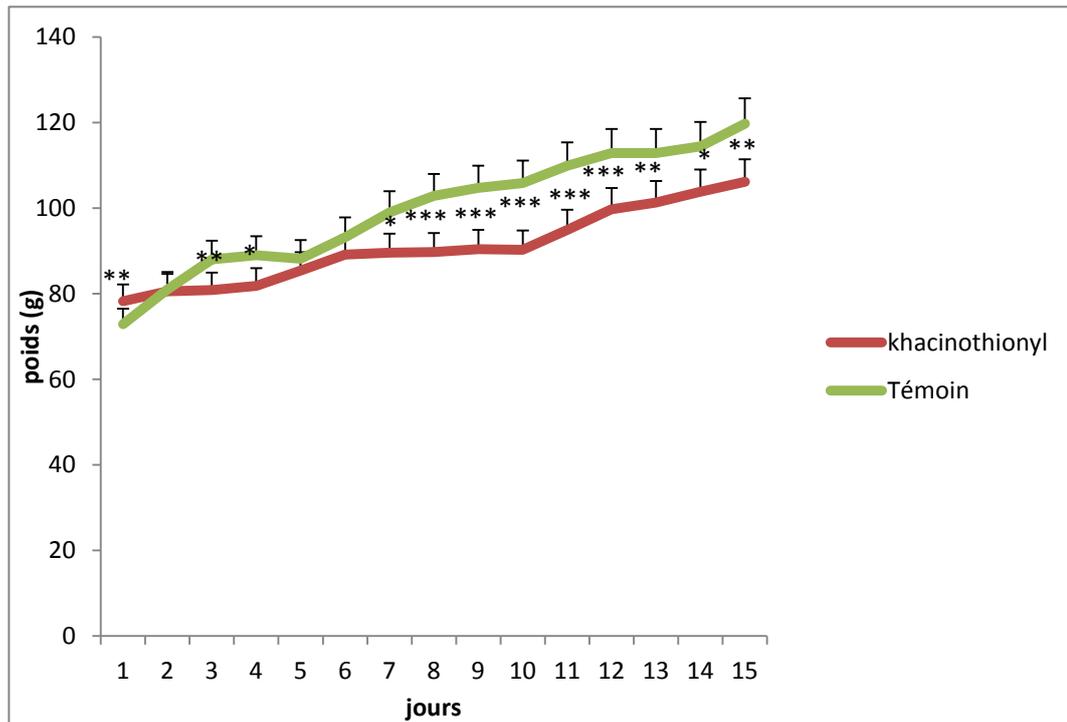


Figure N°10: L'évolution du poids corporel des rats pendant 15 jours d'expérimentation. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (* : $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$).

IV.1.2. Le poids des organes

L'analyse des données révèle une élévation significative ($p < 0,001$) du poids hépatique chez les rats exposés à khacinothionyl par rapport à celui des rats témoins.

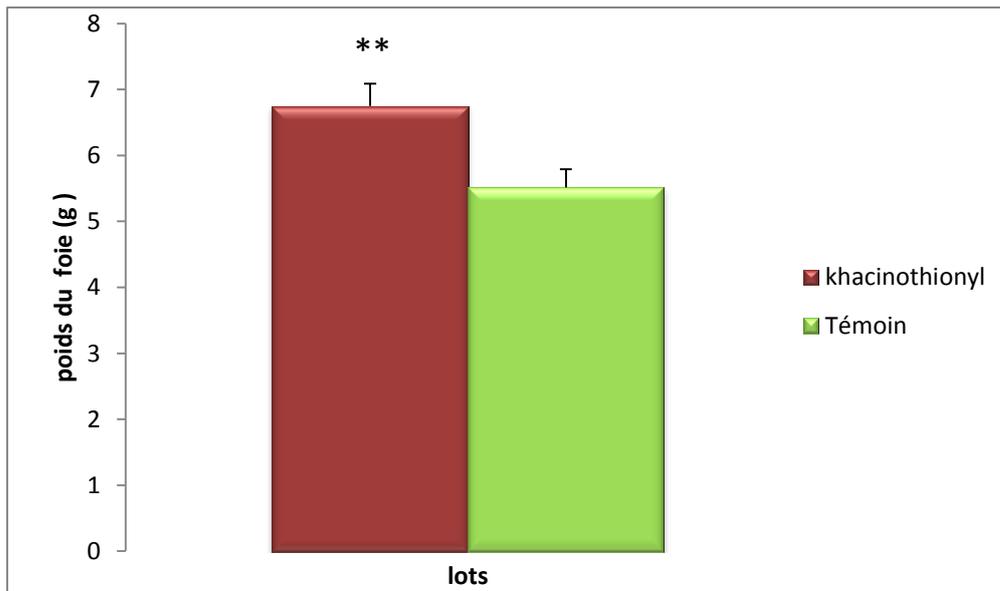


Figure N° 11: Comparaison du poids de foie entre les rats traités par khacinothionyl et les rats témoins. Les valeurs sont exprimées à la moyenne \pm SEM. (**: $p < 0.01$).

IV.1.3. Dosages des paramètres sériques:

Les données enregistrées relatives du taux de glucose sanguin montrent une diminution significative (***) chez les rats exposés au khacinothionyl comparé aux rats témoins.

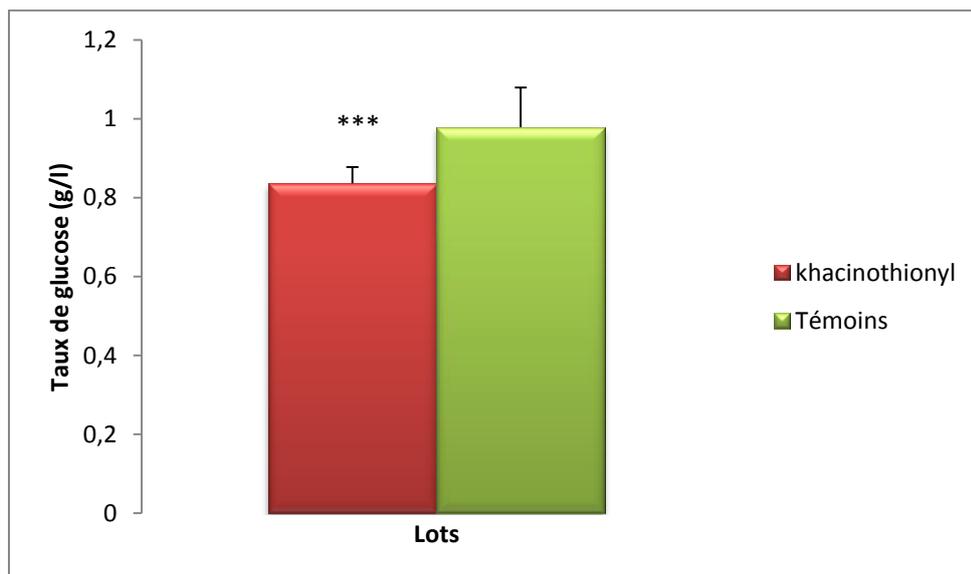


Figure N° 12: Comparaison de la glycémie entre les rats traités par khacinothionyl et les rats témoins. Les valeurs sont exprimées à la moyenne \pm SEM. (***: $p < 0.001$).

En outre, l'exposition au khacinothionyl induit une diminution significative ($p < 0,05$) de la teneur de cholestérol sanguin comparative à celle des rats témoins.

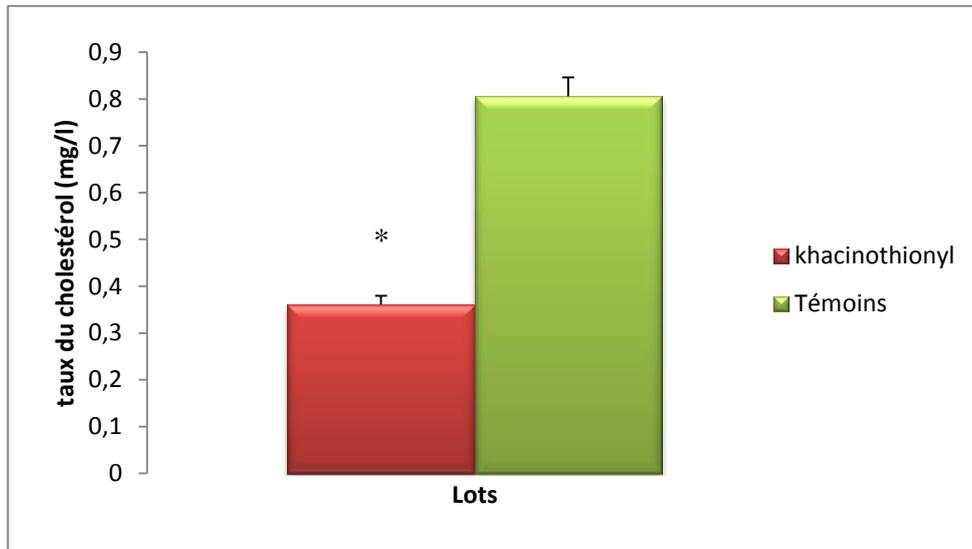


Figure N°11: Comparaison du taux de cholestérol entre les rats traités par khacinothionyl et les rats témoins. Les valeurs sont exprimées au moyenne \pm SEM. (*: $p < 0,05$).

L'étude statistique présente une diminution significative ($p < 0,001$) du taux des triglycérides comparativement entre les rats traités par khacinothionyl et les rats témoins.

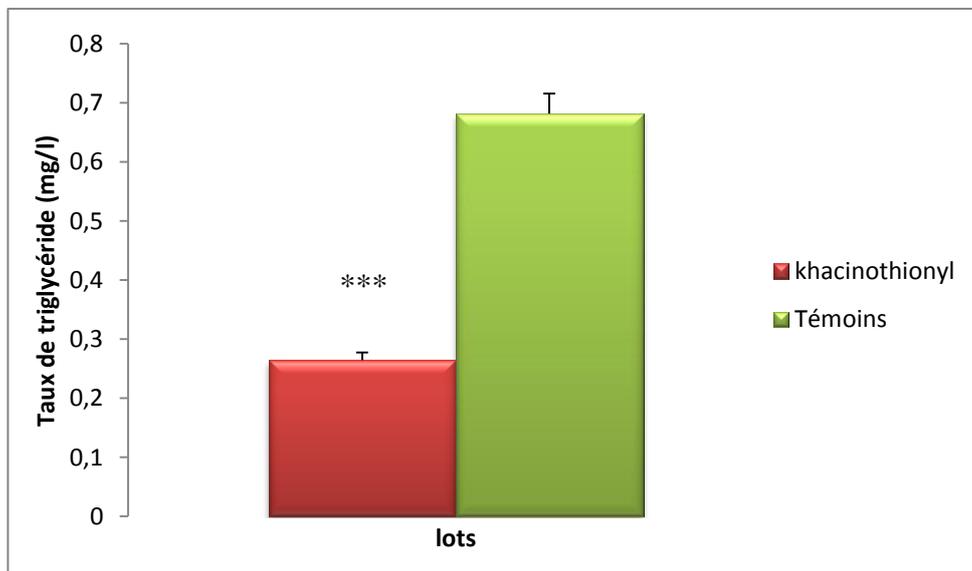


Figure N°12 : Comparaison du taux de triglycérides entre les rats traités par khacinothionyl et les rats témoins. Les valeurs sont exprimées à la moyenne \pm SEM (**: $p < 0,001$)

Les données statistiques révèlent une réduction significative ($p < 0,001$) du taux de bilirubine sérique chez les animaux traités par khacinothionyl comparé aux animaux témoins.

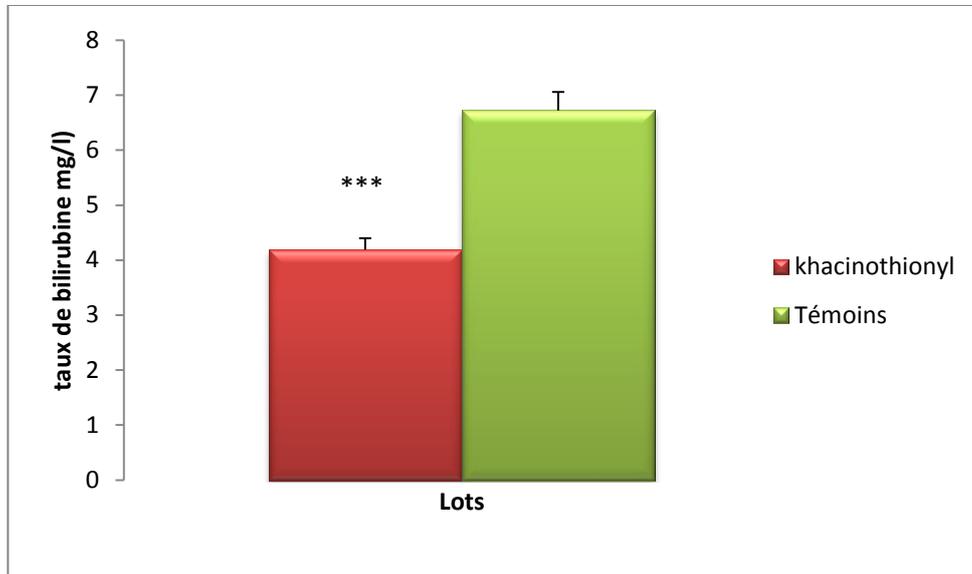


Figure N°13 : Comparaison du taux de bilirubine entre les rats traités par khacinothionyl et les rats témoins. Les valeurs sont exprimées à la moyenne \pm SEM (***: $p < 0.001$).

Le test ANOVA montre une augmentation significative ($p < 0,001$) de la teneur sérique en ASAT chez les individus ayant subi une exposition subchronique du khacinothionyl comparés aux animaux témoins.

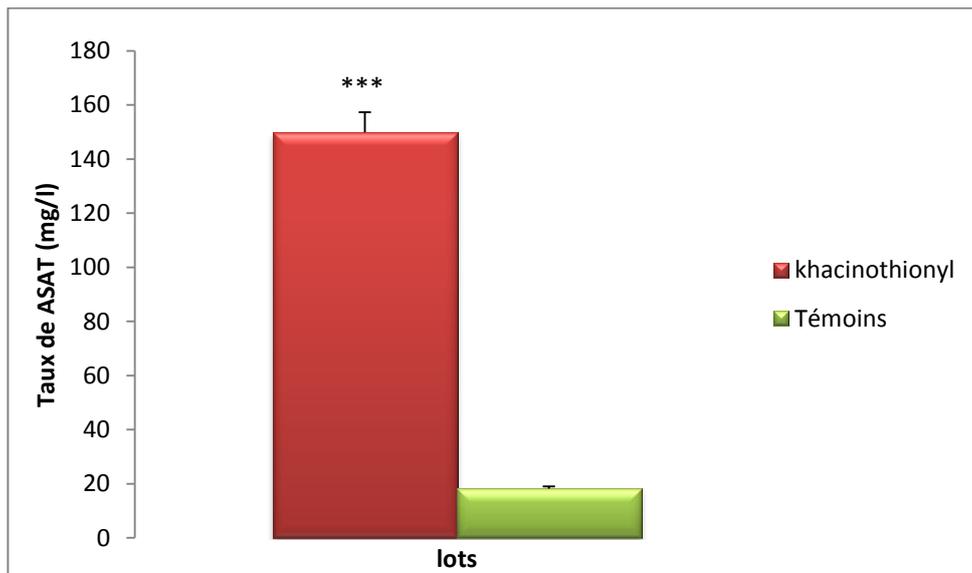


Figure N°14 : Comparaison du taux du TGO entre les rats témoins et les rats intoxiqués par khacinothionyl. Les valeurs sont exprimées au moyenne \pm SEM (***: $p < 0.001$).

L'analyse statistique enregistré en terme de transaminases présente une augmentation significative ($p < 0,001$) de la concentration sérique du ALAT chez les sujets traités par khacinothionyl par rapport les sujets témoins.

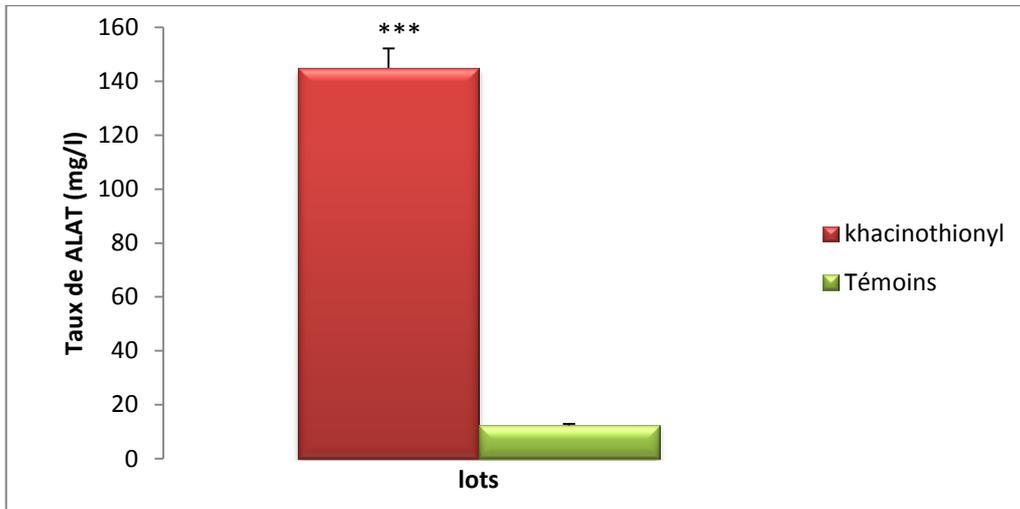
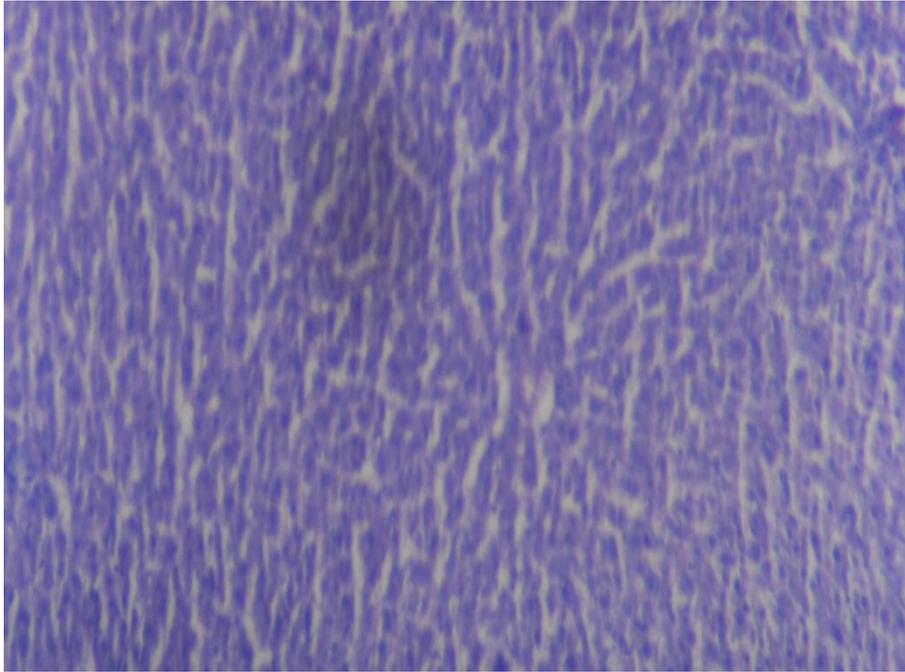
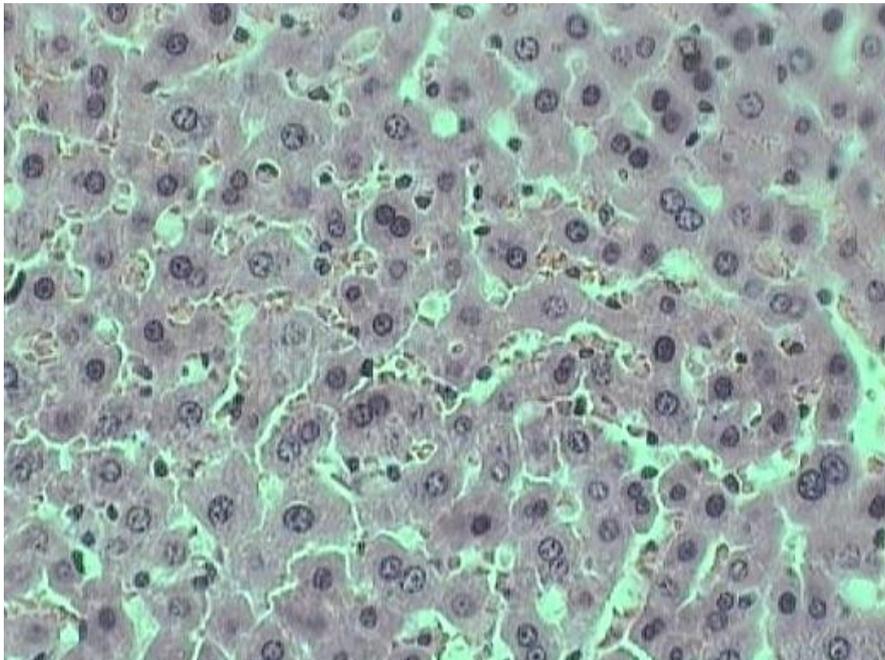


Figure N°15 : Comparaison du taux du TGP les rats traités par khacinothionyl et les rats témoins. Les valeurs sont exprimées au moyenne \pm SEM (***: $p < 0.001$).

Les coupes de tissus hépatiques prélevés chez les rats traités par le khacinothionyl à 10 mg/kg montre une congestion vasculaire de la veine centro-lobulaire et congestion sinusoidale et en plus une dystrophie hépatocytaire à noyau hyperplasique, le parenchyme hépatique est caractérisé par des hépatocytes à noyaux réguliers parfois binucléés, nucléolés, chromatine fine parfois motté, ainsi indique la présence des pigments biliaires dans les espaces inter hépatocytaires par contre chez les rats témoins l'histologie du foie présente un aspect histologique subnormal sans signes inflammatoires, dystrophiques ou tumoraux.



Tissu hépatique d'un rat témoins. (Hématoxyline-Eosine × 40)



Tissu hépatique d'un rat exposé au khacinothionyl. (Hématoxyline-Eosine × 40)

FigureN°16: Examen microscopique du tissu hépatique chez des rats traités par le khacinothionyl et des rats témoins.

Discussion

Les dérivés triazoliques en particulier Le 1,2,4-triazole est utilisé comme matière première dans de nombreuses synthèses chimiques (médicaments et substances phytopharmaceutiques) ils ont une variété d'action : herbicides, insecticides, fongicides.

Ces produits sont estimés comme des substances chimiques peuvent causer des difficultés pour la santé humaine par une large gamme de propriétés toxicologiques (**Zarn et al., 2003 ; EPA, 2009 ; AFSA, 2007**). Ils modifient le fonctionnement des cellules en troublant de nombreuses voies métaboliques (**Nesnow et al., 2011**).

Le foie a été considéré comme le principal organe cible intervenant dans détoxification de l'organisme chez les rats exposés de façon chronique aux dérivés triazolique(**EFSA ,2009**).

Dans ce travail nous avons explorés l'effet d'une exposition subchronique d'un dérivé triazolique le 5 - phenyl1,2,4triazole-3thiolsurlefonctionnement hépatique chez des jeunes rats wistar à travers deux volet : biochimique et histologique.

Les résultats enregistrés concernant le poids corporel montrent clairement que le poids des animaux exposés au khacinothionyl est significativement inférieur à celui des animaux témoins, ce résultat obtenu est similaire à celui de (**Martin et al., 2007**) qui présente que certain dérivé triazolique tel que le triadimifon avec une dose de 175mg/kg entraine une baisse de poids corporel qui due une diminution de la prise alimentaire suite à une hépatotoxicité. La réduction de poids corporel est utilisée comme indicateur de la détérioration de l'état de santé générale du rat.

Concernant le poids hépatique, nous avons remarqué une augmentation significative du poids chez les rats exposés au khacinothionyl par rapport aux rats témoins. Nos données sont en accord avec ceux de (**Martin et al., 2007 ; Allen et al ., 2006 ;Gotez et al., 2007**) qui montrent que l'exposition à certains dérivés triazoliques tel que le myclobutanil avec une dose de 125mg/kg dans une exposition chronique et le propiconazole avec une dose de 500 mg/kg pendant 30 jours induisent une élévation de la prolifération hépatocytaire qui est à l'origine de l'hypertrophie hépatique, l'augmentation de la masse hépatique soit transitoire (mécanisme adaptatif) pour permettre l'élimination des xénobiotiques .

En effet, l'analyse des résultats obtenus a montré une réduction significative du taux en glucose sanguin chez le lot exposé au khacinothionyl par rapport au lot témoin. Certains travaux confirment ce résultat en rapportant qu'une exposition de 3 mois au myclobutanil (192 mg/kg p.c. /j) chez des rats à provoquer une diminution de la glycémie (**ARLASC, 2010**). En outre, les travaux de (**Nesnow ,2011**) montrent que le métabolisme des hydrates de

carbone changé par le traitement propiconazole de 2500 ppm qui est traduit par une augmentation de la glycolyse.

Par ailleurs, l'administration du khacinothionyl à provoquer une réduction significative dans la teneur sérique en cholestérol total et en triglycéride. Nos résultats corrobore avec ceux (**Allen et al., 2006**) qui ont démontrent que chez les animaux exposés au conazoles pendant les 30 jours peuvent également inhiber CYP51 (l'anostérol 14 α -déméthylase). Etant donné que le cholestérol est un substrat pour les étapes ultérieures de la production d'autres stérols, par exemple, hormones stéroïdes sexuelles, la perturbation de cette voie peut conduire à des changements endocriniens et des anomalies de la reproduction, le développement et la fertilité (**Georgopapadakou et Walsh, 1996; Zarn et al, 2003**). La baisse du taux sérique de triglycérides durant l'exposition subchronique au khacinothionyl est semblable à ceux du (**Nesnow et al.,2009**) qui montre que le propiconazole induit une augmentation des lipases ce sont enzymes capables d'effectuer l'hydrolyse de fonctions esters et sont spécialisées dans la transformation de triglycéride en glycérol et en acides gras (lipolyse) .

La bilirubine est l'un des biomarqueurs les plus sensibles et directement impliqués dans l'ampleur des dommages et de la toxicité hépatique.

Toutefois, les résultats relatifs à la bilirubine montrent des valeurs significativement inférieures chez les sujets traités au khacinothionyl comparés au sujets témoins indiquant un dysfonctionnement hépatique. Ces observations sont en accord avec ceux de (**ARLASC, 2010**) qui ont démontré que le myclobutanil après une exposition de 3 mois à une dose de 198mg/kg provoque une diminution de la bilirubine. Cette diminution de l'excrétion de bilirubine conjuguée peut provoquer un ictère cholestatique est en relation avec hépatomégalie (**Vinel et al ,2006**).

Des études antérieures, réalisées sur des rats adultes, ont montré que le myclobutanil peut induire l'endommagement du foie par l'élévation des taux sanguins en transaminases (ASAT et ALAT) (**EFSA, 2009**).

Les transaminases (ASAT et ALAT), dans le plasma reflètent l'activité fonctionnelle du foie. Ces enzymes sont principalement utilisées dans l'évaluation des dommages et du dysfonctionnement hépatiques.

Les données obtenus en terme d'activité enzymatique des ASAT et ALAT ont démontré que l'administration subchronique du triazole khacinothionyl est accompagné par une

élévation significative de cette activité enzymatique cela confirme certaines recherches qui indiquent que bitertanol augmentent les activités des transaminases (ASAT et ALAT) dans le sérum (EFSA,2009) ainsi que le traitement au triadimifon à des concentrations de 25mg/kg porte une action hépatotoxique qui mène à l'altération de la perméabilité de la membrane plasmatique et par conséquent la fuite des enzymes du tissu vers le plasma entraînant ainsi une nécrose et affection hépatique (**Résidus de pesticides dans les aliments, 1985 ; Navarro et al., 1993 ; El-Demerdash et al., 2012**).

Cependant, l'histologie du foie des rats traités par le khacinothionyl à 10 mg/kg de poids corporel pendant 30 jours du traitement révèle une congestion vasculaire de la veine centrolobulaire, congestion sinusoidale, une dystrophie hépatocytaire a noyau hyperplasique, le parenchyme hépatique est caractérisé par des hépatocytes à noyaux réguliers parfois binucléés, avec une chromatine fine parfois motté, ainsi indique la présence des pigments biliaire dans les espaces inter hépatocytaire par contre chez les rats témoins l'histologie du foie présente un aspect histologique subnormal sans signes inflammatoires, dystrophiques ou tumoraux. Les travaux de (INCHEM, 1987, 1992; EPA, 1996, 2004; Sun et al., 2005) indiquent que le myclobutanil, le propiconazole, le triadiméfon chez la souris induisent sur le plan le histopathologique , une prolifération cellulaire importante et la formation de tumeurs.

Conclusion

Les triazole sont été représentés comme ayant des effets sur le foie à des degrés divers à partir de l'induction enzymatique, hypertrophie et une augmentation du poids du foie à une inflammation chronique et une nécrose.

Le présent travail a permis de montre que l'exposition subchronique des rats au 5-phényle 1,2,4-triazole-3 thiol par voie intra péritonéale a une dose de 10mg/kg, induit une diminution significative dans le du poids corporel.

D'autre part, les analyses biochimiques ont révélés une diminution du taux de la glycémie , triglycérides, cholestérol, bilirubine, ALAT, ASAT, chez les rats exposés au triazole khacinothionyl à celui des rats témoins.

Cependant l'étude histologique de tissu hépatique prélevé chez les rats traités par le khacinothionyl à 10 mg/kg montre une congestion vasculaire de la veine centrolobulaire et congestion sinusoidale et en plus une dystrophie hépatocytaire a noyau hyperplasique, le parenchyme hépatique est caractérisé par des hépatocytes à noyaux réguliers parfois binuclées, chromatine fine parfois motté, ainsi indique la présence des pigments biliaire dans les espaces inter hépatocytaire .

On conclut, que le khacinothionyl perturbe le métabolisme glucidique, lipidique et l'activité enzymatique.

En terme de perspectives, il serait envisagé d'entreprendre un protocole expérimental plus approfondi portant sur différents volets :

- Déterminé l'activité de certains paramètres tel que PAL, LDH, fer sérique.
- Aborder le stress oxydatif au niveau tissulaire pour évaluer l'effet du khacinothionyl sur le fonctionnement hépatique.

*Références
bibliographique*

A

- Almasirad, S. A. Tabatabai., M. Faizi., A. Kebriaeezadeh, N. Mehrabi., A. Dalvandi., A. Shafie.2004.** *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.*,**14**, 6057–6059.
- A.F. Rostom., A. Shalaby., A. El-Demellawy.2003,***European Journal of Medicinal Chemistry.*, **38** , 959-974
- A.Leguerrier .2000** ,ABDOMEN, heures de France ;2^e édition :p: 131.
- Abadjian.G .2009** , Anatomie Pathologique 3ème Ed. Française 6th Ed :p5.
- Abdou, N.A ., Amin, F.M., Mansoura, J.1990,**Pharm. Sci ; 6, 25
- Abraham L.Kierszenbaum.2002**, histology and cell biology;p**460-468**
- Adachi ., Chihaya., Balao., March-A., Thompson, Mark-E, J.2001.**appl.
(ARLASC) Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire de Santé Canada. Pour de plus amples renseignements. 2010. ISBN : 978-1-100-95176-8 978-1-100-95177-5,p : 6
Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail(Anses). (2011), 27-31 av. du Général Leclerc, 94701 Maisons-Alfor Cedex.
- Akira, K., Jakeshi, H.1973.** (Sakai chem. Industry Co.Ltd.) Japan's Kokai ; 7362, 634 .
- Allen, W.W., U.S. Patent, 1954. Linser, H., Kiermayer. 1957.O.Planta** , 49, 498.
- Arikan ,S., Rex,J.H. Nystatin LF.** 2001, (Aronex/Abbott).Curr.Opin. Invest. Drugs; 2, 488.
- Arikan, S., Rex,J.** 2002.Curr.Opin. Invest. Drugs; 3, 555.

B

- Bala. S., Gupta, R.P., Sachdeva, M.L., Singh, A.,Pujari, H.K.1978,** *Indian J. Chem*, *16B*, 481.
- Bentiss.F.2006.** hétérocycles pentaatomiques : synthèse organiques, étude des propriétés inhibitrices de la corrosion et des propriétés complexantes. Synthèse des travaux.
- Birnbaum, J. E. 1990,**Pharmacology of the allylamines. J. Am. Acad. Dermatol ;**23**: 782.
- Buscemi. S.,Vivona .N., Caronna, T., J.1996.** Org. Chem; **61** : 8379.
- Batigne. S., D'Amico. Serge., Lalumière., M. Bourbonnière J., Fredette . N., 2002** : Les Guides de la connaissance - Le Corps Humain - Comprendre notre organisme et son fonctionnement. Québec Amérique ; ISBN 978-2-7644-1108-7) : p 128.

C

- Chandrasekar. P. H., Manavathu,E .2001.** Voriconazole.A second generation triazole.Drugs Today (Barc.):37, 135. Chem. Abstr;**105**: 6416.
- Chevry.2011.**complexes click de platine et cuivre-NHC : applications en biologie.
- Choi. U., Kim. T., Jung, S., Kim. C. 1998,**Bullention of the Korean Chemical.

Corton, J. Kavlock, R.J., Dix, D.J.2007, Toxicogenomic study of triazole fungicides. Fungicides: Propiconazole, Triadimefon, and Myclobutanil; **34**:863–878,

Curtius, T.1998.Chem. Ber ; **41** : 3168.

D

D.Jargot.,M.Facly.,S.Robert avec la participation de l'ANSES (**A,Cavelier.,A, Fastier.,M,O,Rambourg**).2014.fiche toxicologiqueMyclobutanil ;**67/548/CE** :p 2

D.S. Bele., I. Singhvi.2011,a review on1, 2,4-triazoles ;ISSN;**2231-2560**:p8

Demirbas. N., Demirbas. A., Sancka. K., Turk. J.2002.Chem , 26, 801.

Denning, D. W .2002, Echinocandins, a new class of antifungal.J. Antimicrob. Chemother;**49**:p 889.

Dionissios.N ., Edina.A ., Anna,P, M. 2010, Clinical safety and tolerability issues in use of triazole derivatives in management of fungal infections : p 27

Dr. Oriana .C., Pr. Denis ,C .2015 ,Le Foie et les Voies biliaires : Anatomie, France.

Duran, A.,Dogan, H. N.,Rollas S. 2002,Farmaco, 57, 559.

E

Ebied. M. Y., Ashmawi. M. I. AL., Abbas, E.S., Egypt. J. 1989,Pharm. Sci., Chem. Abstr;**112**.

EFSA (European Food Safety Authority).2009.Scientific Opinion on Risk Assessment for a Selected Group of Pesticides from the Triazole Group to Test Possible Methodologies to Assess Cumulative Effects from Exposure through Food from these Pesticides on Human Health.

El-Demerdash.F.M.,Attlia.A.A.,Elmazoudy.R.H.2012.Biochemicaland histopathological changes induced by different time intervals of methomyl treatment in mice liver.Journal of Environmental Science and Health, Part A; Toxic/Hazardous Substance and Environmental Engineering.**47(12)** p.1948-1954.

El-masry.A.H ., Fahmy .H.H ., Ali. A. S.H. 2000, Molecules, 5,1429.

EPA (U.S. Environmental Protection Agency),2009.HPV Challenge ProgramTest plan submission 1-H-1, 2,4-Triazole (TA) CAS No.2888-88-0.

F

Faro R.2010, Neurotoxic Effects of Triazole Fungicides on Nigrostriatal Dopaminergic Neurotransmission, Fungicides, OdileCarisse (Ed.), ISBN; **978-953**: p307-266.

G

Gambaryan.G.S ., Izv. S. Kh. Nauk.1983.Chem,Abstr ;110 ,2207a/26, 40.

George.T., Mehta. D.V., Tahilramani. R., Davvid.J.,Talwalker. P.K., J. Med.1971,Chem; 14: p 335.

Georgopapadakou.N.H., and Walsh, T.J.1996. Antifungal agents: chemotherapeutic targets and immunologic strategies. *Antimicrob Agents Chemother* ;**40** : 279–91.

GHULAM,Q.2008.Synthesis, characterization and biological activities of Isocoumarins, triazoles, thiadiazoles and indolinones.

Gjulam,Q .2009. Synthèse, la caractérisation et activités biologiques de l'oxygène, l'azote et le soufre contenant des composés hétérocycliques.

Goetz. A. K., Bao. W., Ren.H.,Schmid. J. E., Tully. D. B., Wood, C. R., Rockett, J.C., Narotsky, M. G., Sun, G., Lambert, G. R.2006.Gene expression profiling in the liver of CD-1 mice to characterize the hepa-totoxicity of triazole fungicides.*Toxicol.Appl.Pharmacol* ;**215** : p274–284.

Grimmel. H.W., Morgan. J.F.1951, Chem. Abstr; **45**:p 2683c.

H

Hamoir J., Goret M., Mignon B., Gustin P. 2001, Actualité sur les antifongiques enregistrés en Belgique dans le cadre du traitement des dermatophytoses chez les carnivores domestiques.*Ann. MédVét* ;**145** :226- 23.

Hanna. N. B., Dimitrijevic. S. D., Larson. S. B., Robins. R. K., Revankar, G. R. J .1988,.Heterocycl. Chem ;**25** : 1857.

Hasegawa. K., Kariyama. T. 1986, Onta Pharmaceutical Co.Ltd.Jpn. Kokai Tokyo JP 61, 148, 176.

Herbrecht.R .2004, Int. J. Clin.Pract; **58**: 612.

Holla. B. S., Veerendra.B.,Shivananda.M. K.,Poojary. B.Eur. J. Med.2003Chem, 38, 759.

Houlot. R. 1984.Techniques d'histopathologie et de cytopathologie ; *Ed. Maloine* ;**19-21** :P 225-227

I

INCHEM.I .1992, Monograph 847. Myclobutanil Pesticide residues in food:1992 evaluations Part II Toxicology pp. 19.Indian J. Chem. 16B, 481.

IPCS INCHEM. 1985. Joint Meeting on Pesticide Residues: 733. Triadimefon, Pesticide residues in food evaluations Part II Toxicology.

Izatt, L, B.1998, Analytical Chemistry; **60**: p 1694.

J

J. C., Narotsky. M. G., Sun. G., Lambert. G. L., Thai, S. F., Wolf. D.C., Nesnow, S., Mushlin. G., Stolovitzky. J., Dix. D. J.2006.Gene expression profiling in the liver of cd-1

mice to characterize the hepatotoxicity of conazole fungicides. *ToxicolApplPharmacol* ; **215**: p 274–84.

J.KOOLMAN et K.H ROHM. 2004, Atlas de poche de biochimie ;3^e édition : p306-310.

J.L Ader .,F.Carré,A.T .Dinh-Xuan, M.Duclos.N.Kubis , J .,Mercier .F.Mion ,C ., Préfaut. S.Roman .2006 ,Physiologie (PCEM1) 2eme édition ; Masson :p276.

J.L.Ader.,F.Carré.,A .T .DinhXuan.,M .Duclos .,N.Kubis.,J.Mercier.,F.Mion.,C.Préfaut., S.Roman.2006.physiologie générale ;2^e édition Masson.p :281

James. A., Wolf. D., George.M., Hester. S., Sun, G., Thai. S., Delker.D.,Moore, T., Jones. C., Nelson. G., Roop. B., Leavitt. S., Winkfield.E.,Ward. W., Nesnow.S.2006.Toxicity profiles in mice treated with hepatotumorigenic and non hepatotumorigenic triazole conazole fungicides: propiconazole, triadimefon, and myclobutanil. *ToxicolPathol*; **34(7)**:p853–62.

Jean-Marie Péron., Jean-Michel Mansuy., Jacques Izopet., Jean-Pierre Vinel.K.2006,Prolonged hepatitis in an immunocompromised patient. *J GastroenterolHepatol* ;**21** : 1223-4; p:192

K

Kane.M. J., Miller. F. P.1988. Eur. Pat, Chem. Abstr , **109**, 1704431.

Kawanishi,T ., Wiroyuki, Morimoto, Hiroshi, Nakano, Takao, Watanabe, Tatasya. Oda., Kuniyuki, Tsujhara .1998, Heterocycles;49,181.

Kuranari. M.,Takeuchi. H.1967,Chem. Abstr ; 21918d, 67.

L

Laib,H .2010, Application des hétérocycles azotés à cinq chaînons comme additifs aux polymères ; P :27-32.

Lewwnstein. M.J., U. S.1954, Chem. Abstr ; **48** :13175 b.

Linser. H., Kiermayer. O. 1957 ,Planta, 49, 498.

Lixue, Z.1990, Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao, 11, 148.

Liz. H ., Alan. F. 2004 , une introduction au foie. San Francisco, CA 94142-7037 ; p1-2 .

M

M.B. Santanaa, K.J.A. Rodrigues, R. Dura ´n, M. Alfonso, L. Vidal, F. Campos ,J.M. De Oliveira, L.R.F. Faro.2009. Evaluation of the effects and mechanisms of action of flutriafol, a triazole fungicide, on striatal dopamine release by using in vivo microdialysis in freely moving rats. Elsevier. P1.

M. S. Karthikeyan.2009.*European Journal of Medicinal Chemistry.*,**44**,827-833.

Martin. G.,German Patent.**March.1973**, Chem. Abstr; **78**: 136302t.

Martin. M. T., Brennan. R. J., Hu. W., Ayanoglu, E., Lau. C., Ren, H., Wood. C. R., Corton. J. C., Kavlock. R. J., Dix.D. J. 2007, Toxicogenomic Study of Triazole Fungicides and Perfluoroalkyl Acids in Rat Livers Predicts Toxicity and Categorizes Chemicals Based on Mechanisms of Toxicity. *Toxicol.Sci.*;**97**: 595-613 .

Menegola. E., BrocciaM.L., Di Renzo, F., Massa, V. and Giavini. E.2005, Study on the common teratogenic pathway elicited by the fungicides triazole-derivatives. *Toxicology in Vitro*; **19**: 737–748.

Mhasalkar.M.Y., Shah. M.H., Nikam. S.T., Anantanarayanan. K.G., Deliwala. C.V., J. Med. 1970,Chem; **13**:p 672.

Mir. I., Siddiqui M.T.,Comrie A.1970,Tetrahedron ; **26**: 5235.

Mishra. R.K.,Tewari, R.K., J. 1991,Indian Chem. Soc; **68**, 110.

Mohan, J., Indian J.1983, Chem; **22B**, 270.

Mohasalkar, M.Y., Shah, M.H., Nikam, S.T., Anantanarayanan, K.G., Deliwala, C.V., J. Med.1971, Chem;**14**, 260.

N

Navarro .C.M.,Montilla,P.M.,Martin A.,Jimenez.J.,Utrilla.P.M.1993,Free radicals scavenger and antihhepatotoxic activity of rosmarinus. *Plant.Med.***59**:912-314.

Nesnow.S., Ward. T., Moore. T .2011, Propiconazole Induces Alterations in the Hepatic Metabolome of Mice:Relevance to Propiconazole-Induced Hepatocarcinogenesis; 297–309.

Nesnow, S., Ward, W., Moore, T., Ren, H., and Hester, S. D. 2009.Discrimination of tumorigenic triazoleconazoles from phenobarbital by transcriptional analyses of mouse liver gene expression. *Toxicol. Sci.*;**110**:;68–83.

Nikolay M. Filipov., David A. Lawrence.2001. Developmental Toxicity of a TriazoleFungicide:Consideration of Interorgan Communication. *TOXICOLOGICAL SCIENCES***62**, 185–186.

O

Orabi. A.S., Moneim. M.A., El-Dinsalem E., El-Din Abdel-Fattah. M. J. 2000, Polish. Chem; **74**: 1675.

P

Parmar. S.S., Rastogi. V.K., Agarwal. V.K., Sinha. J. N.,Chaudhari. A., Can. J. 1974,Pharm. Soc; **9**:p107.

Patil, S. A., Bodiger, B. M., Kudasi, S. M., Kikerni, V.H., J.1984, Indian Chem. Soc; **61** (8):p713.

Pitot, H. C. 2007, Adventures in hepatocarcinogenesis. Annu. Rev. Pathol. 2,1–29.

Priyanka P.Gadhawe.,Nachiket S.Dighe.,Shashikant R .Pattan., PravinDeotarse,Deepak ., Musmade and R.V.Shete.2010.Current biological and synthetic profile of Triazoles: A review,Annals of Biological Research,1; (1) :82-89.

(PRD). Projet de décision d'homologation (2012)- 29 Fongicides techniques
Tétraconazole.Santé Canada.

R

R. Agrawal, S. S. Pancholi .2011 *Der Pharma Chemica.*,**3** : 32-40.

Rkovskay. L. G., Knysh. F. G., Rogulchemko. G. L. 1989,Farm. Zh,(Kiev),5, 67.,Chem I. Abstr;112(1), 98233 a.

(REG) Note réglementaire.**2007**, Publications Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire.Prothioconazole.

S

Schmidt. R. R., Heermann. D.1981, Chem. Ber; 114, 2825.

Schofield. K., Grimmett.M.R.,Keene, B.R.T. 1976. Heteroaromatic Nitrogen compounds. The Azoles Cambridge University Press, 34.

Sun, G., Thai, S. F., Tully, D. B., Lambert, G. R., Goetz, A. K.,Wolf, D. C., Dix,D. J., and Nesnow, S. 2005. Propiconazole-induced cytochrome P450 gene expression and enzymatic activities in rat and mouse liver.*ToxicolLett***155**, 277–287.

Shafie. A., Nassian.F.,Reghavi. N.1992,J ,Heterocycl. Chem; **29**:p1863.

Shah. M.H., Mhasalkar.M.Y., Patki, M.V.,DeliwalaC.V.,Sheth, U.K.1969,J, Pharm. Sci; **58**, 1398. Society: 19(3).

Somerai.T., Szilagyi. L., Horvath. S.1986, Arch. Pharm; 139 (3), 238.

Srivastava. S. K., Pathak. R. B., Bahel. S. C.1989, Indian Chem. Soc;66 (3),210.

Stephanyan. E.S., Delo. V. 1966, Chem. Abstr ;**64**: 4146.

Suman.S.P., Bahel. S.C.1979. J,IndianChem; Soc:56, 374.

V

Vamvakides, A. 1990,Pharm. Fr, 48, 154.

Velaquez. S.,Alvarez. R., Pervez. C. 1998, Antiviral chem. Chemother; **9** (6):p 481.

W

Wierzbicki., P. Hugon., J. C. Poignant.1986, (ADIR) Eur .Pat. Appl. EP. 199,641,

WILLIAM O. WARD., DON A. DELKER ., SUSAN D. HESTER ., SHEAU-FUNG THAI ., DOUGLAS C. WOLF., JAMES W. ALLEN., STEPHEN NESNOW.2006,Transcriptional Profiles in Liver from Mice Treated with Hepatotumorigenic and NonhepatotumorigenicTriazoleConazole;

Witkowski J. T., Robins. R. K., Sidwell. R. W., Simon. L. N., J. Med. 1972, Chem;15:p 1150.

Y

Yale, H.L., Piala, J.J., J. Med.1966,Chem;9: 42.

Z

Zamani. K., Faghihi. K., Sangi. M. R., Zolgharnein. J. ,Turk J. 2003Chem ;27.

Zarn J. A., Bruschweiler. B. J., Schlatter. J. R. 2003, Azole fungicides affect mammalian steroidogenesis by inhibiting sterol 14 alpha-demethylase and aromatase. Environ Health Perspect; **111**: 255–61.