

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Dr. Moulay Tahar Saida

Faculté des Sciences et de la technologie

Département de biologie



Mémoire élaboré en vue de l'obtention du diplôme de mastère

Spécialité : Biologie

Option : Biochimie et physiologie cellulaire

Présentée par :

-Korichi Nacéra

Thème

-Selmati Hanane

Evaluation de l'effet d'une exposition aigue au 5-phenyl-1, 2,4-triazole-3-thiol (Khacinothionyl) chez les jeunes rats Wistar sur la fonction hépatique. Etude biochimique et histologique.

Soutenu le 13 / 06 /2015 Devant la commission du jury :

Mr Slimani Miloud	Professeur	U de Saida	Président
Mr Adli djallel eddine	Maître - assistant « A »	U de Saida	Examineur
Mr Berroukech Abdelkrim	Maître - conférence « A »	U de Saida	Examineur
Mr Kahloula Khaled	Maître - conférence « A »	U de Saida	Encadreur
Melle Hadjadj Hassina	Maître - assistante « A »	U de Saida	Co-encadreur

Année universitaire : 2014/2015

Résumé

Le présent travail a permis de mettre en évidence l'hépatotoxicité du triazole 5-phenyl-1,2,4-triazole-3-thiol (Khacinothionyl) à travers le dosage de quelques paramètres biochimiques notamment les marqueurs du fonctionnement hépatiques, le modèle in vivo est basé sur une exposition aiguë de 24H des rats Wistar à une dose de 200mg/kg à base de 5-phenyl-1, 2,4-triazole-3-thiol (Khacinothionyl).

Après l'exposition aiguë au Khacinothionyl, nous avons remarqué une diminution significative dans le poids hépatique par rapport à celui des rats témoins.

D'autre part, nos résultats révèlent que l'exposition aiguë au Khacinothionyl induit des modifications métaboliques au niveau hépatique, les analyses sériques des sujets exposés ont présenté des valeurs significativement supérieures en terme de glycémie ($P < 0.05$), par rapport aux sujets témoins.

Par ailleurs, l'administration de Khacinothionyl pour la même dose chez les rats, a permis d'observer au niveau plasmatique, une réduction significative de la teneur sérique en cholestérol totale et en triglycérides ($P < 0.001$) comparés aux valeurs des rats témoins.

De plus, des anomalies métaboliques ont été détectées à travers les dosages des transaminases reflétant ainsi une perturbation de la fonction hépatique, a enregistré une baisse significative de teneur plasmatique en ALAT et ASAT ($P < 0.001$) accompagnée avec une diminution significative de teneur plasmatique en bilirubines ($P < 0.001$) chez les rats exposés en comparaison aux rats non exposés.

L'ensemble de ces résultats montre bien que l'exposition au 5-phenyl-1, 2,4-triazole-3-thiol (Khacinothionyl) provoque des perturbations et un degré de potentiel cytotoxique sur le foie confirmé par les études histologiques.

Mots clés : 5-phenyl-1, 2,4-triazole-3-thiol, cholestérol, glycémie, hépatotoxicité, transaminases, triglycéride.

Remerciement

Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu d'avoir donné à l'homme le pouvoir de raisonner et d'exploiter et d'expliquer les vérités de l'univers.

*En premier lieu nous tenons à remercier du fond de notre cœur à notre très cher encadreur **Docteur Kahloula Khaled** pour avoir accepté de diriger et suivi ce travail, pour la facilité de travail qu'il nous a procuré, pour ses judicieux conseils pratique qu'il nous a prodigué tout au long de notre travail, pour sa patience et surtout sa gentillesse. Nous exprimons notre admiration pour sa grande et rare qualité tant scientifique qu'humaines.*

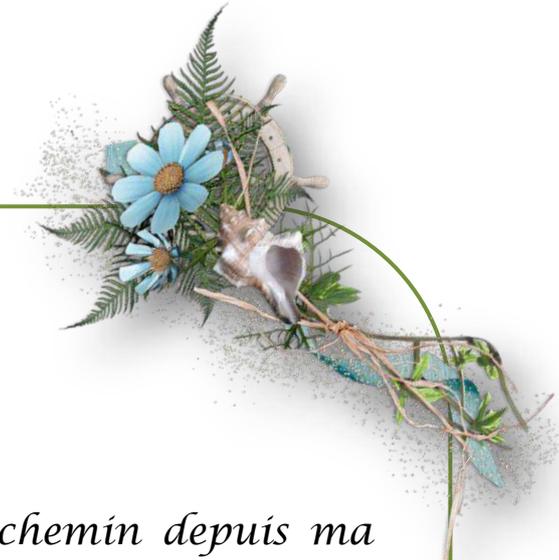
*Nos remerciements les plus sincères et respectueux s'adressent tout particulièrement **Melle Hadjadj Hassina**, Pour sa collaboration, Sa simplicité, son entière disponibilité, son aide précieuse, son soutien s'est avéré déterminant pour mener ce travail à terme. Si aujourd'hui, nous exprimons notre vive reconnaissance et notre profonde et respectueuse considération.*

*Des remerciements au président de jury **Pr Slimani. M** pour l'honneur qu'il nous avons fait d'avoir acceptée la présidence du nos jury*

*Des remerciements aux examinateurs : **Mr Beroukche. A et Mr Adli. D** qui nous avons fait l'honneur d'examiner notre travail.*

*Des remerciements au responsable du laboratoire de « biologie» de l'Université de Saida, **Hamadi. A** pour leur aide et disponibilité.*

*Nous n'oublions pas de remercier tout les enseignants qui ont attribués à notre formation durant les années d'étude en particulier : **Mr Slimani. M, Mr Benali. O, Mr Ouisi, Mr Halla. N, Mr Baroukch. A et Mr Adli. D.***



Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A la bougie qui a éclairé mon chemin depuis ma naissance, à celle dont j'ai prononcé le premier mot, source de ma vie et de mon bonheur, à ma mère que dieu ait son âme et l'héberge dans son immense paradis. « J'aurais tant aimé que tu sois là pour voire ce que tu as réussi ».

A mon cher père que dieu lui donne la force pour qu'il continue à couronner notre vie.

A mes chers frères Nasraddine, Nasrallah, Sofiane.

A mes chères sœurs Salîha, Chams, Naïma, Somia, Talia, quelles m'ont beaucoup aidées et supportées tout au long de ce travail.

à toute personne qui m'a aidé d'un mot, d'une idée ou d'un encouragement.

Je dis «Merci»....



Korichi Nacera



Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A mes chers parents, qui ont été pour moi un modèle et n'ont cessé de m'encourager aussi de leur patience, leur réconfort et leur affectueux soutien tout au long de ce travail m'ont été d'une très grande aide.

A mon marie qui m'a encouragé et soutenu en continu dans mes moments les plus difficiles.

A mes chers frères Abdelwahab, ISmaïle et Kada.

A mes chères sœurs Houaria et Mokhtarîa.

A mes grands pères et grandes mères, la source de notre bonheur.

Ames chères amies chaque une par son nom et toute la promotion de Master biochimie et physiologie cellulaire

Je dis «Merci»....



Selmati Hanane

Summary:

This work has helped to highlight the hepato-toxicity triazole5-phenyl-1, 2,4-triazole-3-thiol (Khacinothionyl) through the dosage of some biochemical parameters including biochemical parameters of liver function markers. The in vivo model is based on Acute Exposure 24H Wistar rats at a dose of 200mg / kg a base of 5-phenyl-1, 2,4-triazole-3-thiol (Khacinothionyl).

After acute exposure Khacinothionyl we noticed a significant decrease in liver weight compared to control rats.

Furthermore, our results show that acute exposure Khacinothionyl induces metabolic changes in the liver, serum analysis of exposed patients presented significantly higher values in terms of blood glucose ($P < 0.05$), compared to control subjects.

Furthermore, the administration of Khacinothionyl for the same dose in rats, it was observed in plasma, a significant reduction in serum total cholesterol content and triglyceride ($P < 0.001$) compared to values in rats witnesses.

Moreover, metabolic abnormalities were detected through transaminase assays reflecting a disturbance of liver function, recorded a significant decrease in plasma level of ALT and AST ($P < 0.001$) accompanied with a decrease in plasma level significativede bilirubins ($P < 0.001$) in rats exposed compared with unexposed rats.

All of these results shows that exposure to 5-phenyl-1,2,4-triazole-3-thiol (Khacinothionyl) causes disturbances and a degree of cytotoxic potential liver confirmed by histological studies.

Keywords : 5-phenyl-1, 2,4-triazole-3-thiol, cholesterol, blood sugar, liver-toxicity, transaminases, triglyceride.

الملخص:

سمحت لنا هذه الدراسة بتسليط الضوء على الأثر السام للترازول 5 فينيل-1، 2،4- تريازول-3- تيول (Khacinothionyl) على مستوى الكبد عن طريق جرعات بعض المعايير البيوكيميائية ولاسيما الوظائف الكبدية، تمثل النموذج التجريبي في المخبر على التعرض الحاد لمدة 24 سا للجرذان من فصيلة ويسنار لجرعة قيمتها 200 مغ/ كغ من التريازول 5-فينيل-1، 2،4 تريازول-3- تيول.

بعد التعرض الحاد للترازول 5- فينيل-1، 2،4- تريازول-3- تيول لاحظنا انخفاض في وزن الكبد عند الجرذان المعرضة بالمقارنة مع الجرذان الشواهد.

من جهة أخرى أظهرت النتائج أن التعرض الحاد للترازول 5- فينيل-1، 2،4- تريازول-3- تيول أدى إلى حدوث تغيرات أيضاً على مستوى الكبد. نتائج التحاليل عند الجرذان المعرضة أظهرت قيم مرتفعة لنسبة الجلوكوز في الدم (P < 0.05) بالمقارنة مع الجرذان الشواهد.

زيادة على ذلك، التعرض الحاد للترازول 5- فينيل-1، 2،4- تريازول-3- تيول لنفس الجرعة لدى الجرذان، سمح لنا بملاحظة انخفاض كبير في المصل لتركيز محتوى الكولسترول والدهون الثلاثية (P < 0.001) مقارنة مع قيم الجرذان الشواهد.

بالإضافة إلى ذلك، تم الكشف عن حالات الشذوذ الأيضي من خلال فحوصات وظائف الأميناز ASAT/ALAT مما يعكس وجود اضطرابات في الوظائف الكبدية. لوحظ انخفاض كبير في مستوى البلازما لنسبة ALAT و ASAT مصحوب كذلك بانخفاض ملحوظ لتركيز البيليروبين (P < 0.001) على مستوى البلازما لدى الجرذان المعرضة مقارنة مع الجرذان الشواهد.

بينت مجمل كل هذه النتائج أن التعرض الحاد للترازول 5-فينيل-1، 2،4- تريازول-3- تيول يسبب اختلال ونسبة كمون لتسمم الكبد مؤكداً كذلك بنتائج الدراسات النسيجية .

كلمات البحث : 5- فينيل-1، 2،4- تريازول-3- تيول، كوليستيرول، الجلوكوز، تسمم الكبد، الدهون الثلاثية، وظائف الأميناز.

Liste des figures

Figure 01 : Les deux isomères de triazole.....	04
Figure 02 : Cycloaddition 1,3-dipolaire azide/alcyne de Huisgen.....	07
Figure 03 : Le mode d'action biochimique.....	08
Figure 04 : L'emplacement du foie dans le corps.....	18
Figure 05 : Anatomie du foie (vue inferieur).....	20
Figure 06 : La segmentation de foie.....	21
Figure 07 : La structure de lobule hépatique.....	23
Figure 08 : Photo d'un espace porte.....	24
Figure 09 : Coupe fine d'inclusion en paraffine colorée à d'hépatocytes.....	25
Figure 10 : L'organisation de lobule hépatique.....	25
Figure 11 : Les cellules de kupffer.....	26
Figure 12 : Conditionnement des rats dans l'université.....	29
Figure 13 : le produit injectable.....	30
Figure 14 : Le prélèvement sanguin.....	32
Figure 15 : Le prélèvement et la conservation du foie.....	32
Figure 16 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	38
Figure 17 : L'évaluation de poids hépatique.....	39
Figure 18 : Comparaison de la glycémie entre les rats témoins et les rats intoxiqués.....	40
Figure 19 : Comparaison de cholestérol entre les rats témoins et les rats intoxiqués.....	41
Figure 20 : Comparaison de triglycéride entre les rats témoins et les rats intoxiqués.....	41
Figure 21 : Comparaison des transaminases entre les rats témoins et les rats intoxiqués.....	42
Figure 22 : Comparaison de bilirubine entre les rats témoins et les rats intoxiqués.....	43
Figure 23 : Coupe histologique montrant de la congestion des vaisseaux Centro-lobulaire.....	44
Figure 24 : Coupe histologique montrant des territoires nécrosés.....	45

Figure 25 : Coupe histologique montrant des infiltrats inflammatoires.....**45**
Figure 26 : Histologie du foie chez les rats témoins montrant une architecture normale.....**46**

Liste des tableaux

Tableau 01 : Les propriétés physico-chimiques des triazoles.....**06**
Tableau 02 : Evaluation de poids de foie.....**39**

Liste des abréviations

ADP	Adénosine diphosphate.
ALAT	Alanine aminotransférase
ASAT	Aspartate aminotransférase
ATP	Adénosine triphosphate.
CAR	Le récepteur constitutif des androstanes.
CE50	Concentration efficace 50.
Cu	Cuivre.
CuAAC	Cycloaddition azide/ alcyne catalysé par le cuivre.
Cyp51	Cytochrome p51
DMSO	Diméthylsulfoxyde
ΔH	Enthalpie.
EDTA	Acide éthylène diamine tétracétique
EGF	Facteur de croissance épidermique.
FGF	Facteurs de croissance des fibroblastes.
GPO	Glycérol phosphate déshydrogénase.
H cl	Chlorure d'hydrogène
H₂O	Eau.
H₂SO₄	L'acide sulfurique.
IFI	Infection fongique invasive
LCR	Liquide céphalorachidien
MDH	Malate déshydrogénase.
N	Nombre de mole
Na Cl	Chlorure de sodium.

NADPH	Nicotinamide adénine diphosphate réduit.
O₂	Oxygène.
PDGF	Platelet-derived growth factor.
PKa	Potentiel constant d'acidité
POD	Peroxydase.
ppm	Partie par million.
PXR	Pregnane X receptor.
SNC	Système nerveux centrale.
Teb	Température d'ébullition.
Tf	Temps de fusion.
TGF-β	Facteur de croissance transformant
TGO	Glutamo-oxaloacétique.
TGP	Glutamopyruvique.
T_{max}²	Temps maximale.
TRZ	Triazole.
V	Veine.
VCL	Veine centrolobulaire

Table de matières

Résumé

Remerciements

Dédicace

Dédicace

Abstract

ملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste d'abréviations

Introduction.....01

Synthèse bibliographique

Les triazoles

I. Historique.....03

II. Définition des composés triazoles.....04

 II.1. 1, 2,3-triazole.....04

 II.2. 1,1,2,4-triazole.....05

III. Les propriétés physicochimiques.....05

IV. Les classes des triazoles.....06

 IV.1. La première génération.....06

 IV.2. La deuxième génération.....06

V. La synthèse des triazoles.....07

VI. Le mode d'action biochimique.....08

VII. Domaine d'application des triazoles.....08

 VII.1. Applications agricoles.....09

 VII.2. Applications pharmaceutiques.....09

VII.3. Applications industrielles.....	11
VII.4. Applications dans la synthèse chimique.....	11
VIII. La toxicocénétique du triazole.....	12
IX. Les effets toxiques du triazole.....	14
IX.1. Effets sur la santé humaine.....	14
IX.1.1. Effet hépatique.....	14
IX.1.2. Effet sur le système endocrinien.....	14
IX.1.3. Effet rénale.....	15
IX.1.4. Effet sur le système nerveux.....	15
IX.2. Effets écologiques.....	16
IX.2.1. Impact environnementale.....	16
IX.2.2. Effet sur les mammifères.....	16
IX.2.3. Effet sur la faune aquatique.....	16
IX.2.4. Effet sur la microflore.....	16

Le foie

I. Général sur le foie.....	17
II. Définition.....	18
III. Localisation.....	18
IV. Anatomie.....	19
V. Segmentation.....	20
VI. Innervation.....	21
VII. Types cellulaire.....	22
VIII. Histologie.....	23
IX. Les fonctions majeurs du foie	26
X. La régénération hépatique.....	27

Etude expérimentale

Matériels et méthodes

I. L'objectif.....	29
II. Protocole expérimentale.....	29
II.1. Animaux et logement.....	29
II.2. La synthèse de 5-phényl 1, 2,4-triazole 3-thiol.....	29
II.3. Préparation de solution de l'injection.....	30
II.4. Traitement des rats.....	31
II.4.1. L'exposition aigue.....	31
III. Sacrifice et prélèvement des échantillons.....	31
III.1. Prélèvement sanguin.....	31
III.2. Prélèvement de foie.....	32
IV. Technique de dosage des paramètres biochimiques et exploration de la fonction hépatique.....	32
IV.1. Dosage du glucose sanguin.....	33
IV.2. Dosage de cholestérol	33
IV.3. Dosage des triglycérides plasmatiques.....	34
IV.4. Dosage des transaminases plasmatiques.....	34
IV.5. Dosage de bilirubine plasmatique.....	35
V. Analyse statistique.....	35
VI. Technique histologique.....	36

Résultats et interprétation

I. Les résultats de l'exposition aigue.....	39
I.1. L'évaluation de poids hépatique.....	39

I.2.2. Dosage de paramètres lipidiques.....	40
I.2.3. Dosage de transaminase plasmatique et bilirubine.....	42
I.3.Les résultats de l'analyse histologique.....	43
<u>Discussion</u>	47
<u>Conclusion et perspective</u>	52
<u>Références bibliographiques</u>	54



Introduction

L'étude des systèmes hétérocycliques à cinq chaînons a connue un développement considérable, dû à la mise en évidence de leurs activités biologiques. Le triazole est parmi une large variété des hétérocycles étudiés pour développer de nouvelles molécules actives (**Neu et al., 1988**). Les triazoles par définition, sont l'une d'une paire d'isomères des composés chimiques avec la formule moléculaire $C_2H_3N_3$. C'est un anneau hétérocyclique aromatique de base (**Gilchrist et al., 1992**).

Le triazole et ces dérivés représentent la catégorie la plus importante des fongicides qui ont acquis beaucoup d'intérêt dans la dernière décennie en raison de son vaste champ d'activités et leur importance biologique industrielle et agricole (**Secrist et al., 1991**).

En médecine, Beaucoup des progrès ont été réalisés dans la thérapie antifongique au cours des trois dernières décennies. Itraconazole et le fluconazole, deux agents de triazole expérimentaux, sont les plus récents ajouts à la liste des médicaments antifongiques. Cette évaluation a porté principalement sur leurs mécanismes d'action, les propriétés pharmacologiques favorables et les spectres d'activité contre un large éventail d'agents pathogènes systémiques (**Saag et al., 2002**).

Sur la base de diverses enquêtes de la littérature, le noyau triazole occupe la place la plus importante dans le traitement des maladies fongiques (**Vatmurge et al., 2008**). L'avènement de triazoles a révolutionné la prise en charge des patients nécessitant un traitement ou la prophylaxie pour les infections fongiques invasives, cette classe d'agents antifongiques azolés a été parmi les composés les plus bien reçus par les cliniciens. Puisque l'incidence des IFI a considérablement augmenté au cours des deux dernières décennies dans le monde entier (**Dalvie et al., 2003**), les triazoles alors constituent la plus grande classe d'agents antifongiques dans l'utilisation clinique actuelle (**Odds et al., 2003**).

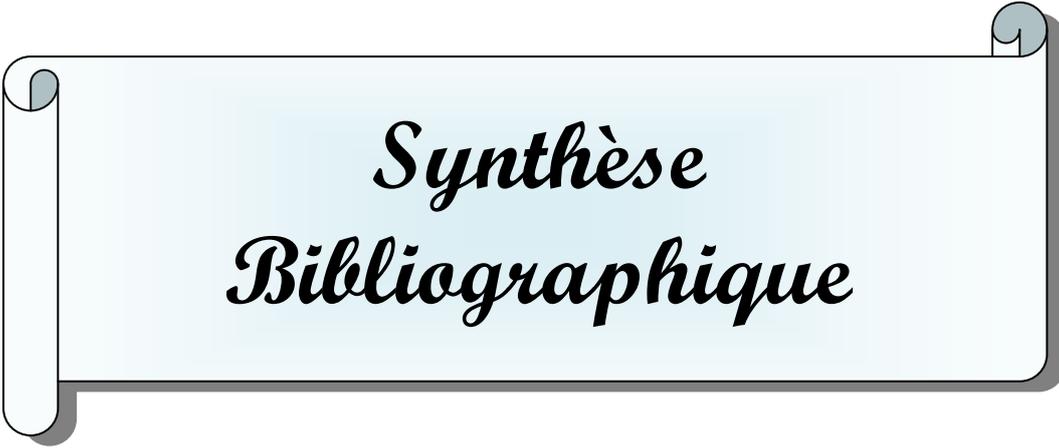
Les produits de TRZ sont plus que seulement des segments de liaison passives, ils associent facilement avec des cibles biologiques par des interactions de liaison hydrogène et dipolaires (**Homi et al., 2011**). La présente revue se concentrera principalement sur la littérature récente pour les applications de cette réaction dans le domaine de la chimie médicinale, en particulier sur l'utilisation de la fraction 1, 2,3-triazole comme pharmacophore (**Moore et Robinson, 1988**).

En agriculture, les triazoles restent présents au cœur de tous les programmes avec une action complémentaire aux nouveaux modes d'actions, ils constituent même le partenaire idéal

de ce nouveau mode d'action. Il n'existe pas à ce jour d'alternatif capable de se substituer aux triazoles. En situation septoriose-rouille, la classe époxiconazole reste la référence suivie par le metconazole. (**Butzen et al., 2005**).

Notre sujet de mémoire de master a été choisi dans ce contexte et porte sur la détermination de l'hépatotoxicité et quelques paramètres sériques suite à l'exposition aiguë au 5-phenyl-1, 2,4-triazole-3-thiol (Khacinothionyl).

- ❖ La première partie de ce travail est relative à une étude bibliographique portant sur les triazoles, leurs différentes classes, le mode d'action, les applications et les paramètres de validation dans le cadre de l'approche qualitative.
- ❖ La deuxième partie porte sur un concept important dans l'histopathologie, le foie, comme organe choisit pour l'exposition à notre étude expérimentale.



*Synthèse
Bibliographique*

I. Historique :

Les dérivées azolés sont de loins antifongiques les plus utilisées en clinique et pour cette raison, ce sont des antifongiques les plus étudiés par la communauté scientifique, aussi bien au niveau de leur propriétés pharmacologiques et de leur mode d'action (**Vandeputte, 2008**). Le mot triazole fut donnée pour la première fois par Bladin en 1885 au système cyclique carbone-azote de formule $C_2H_3N_3$ (**Bladin, 1885**).

En 1960, Potts a noté l'utilisation de complexes triazole d'argent pour des applications dans l'industrie photographique. Beaucoup de recherches sont également consacrés à imitant réactions enzymatiques par des modèles fonctionnalisés ou en utilisant de telles réactions de complexation autres que ceux enzymatiques. Le fait que 1, 2,4- triazoles sont assez similaires en géométrie à imidazoles, qui se produisent massivement dans la nature, est deuxième propriété qui a fait les triazoles et les complexes de triazole très prisés composés pour imiter les processus naturels (**Reedijk et al., 1987**). Aussi est à l'étude la substitution de ligands pyrazole par triazoles et offre de nombreuses possibilités intéressantes, par exemple dans la recherche de tripyrazoloylborates (**Janiak et al., 1994**).

Par conséquent, de nombreux chercheurs ont synthétisé ces composés en tant que structures cibles et évalués leurs activités biologiques. Ces observations aident les chercheurs pour le développement de nouveaux composés triazole avec des activités biologiques améliorées. Cette revue se concentre sur les différentes stratégies de synthèse suivis pour la synthèse des triazoles et leurs activités biologiques (**Sathish et al., 1989**).

Les chimistes médicaux ont considéré la synthèse de 1, 2, 3 hétérocycles base-triazole que la pierre d'angle de la chimie, dans la première partie du XXe siècle, les chercheurs ont commencés à travailler sur la possibilité d'utiliser 1, 2,3-triazole pour le traitement du cancer et de tumeurs malignes (**Dalvie et al., 2002**). A titre d'exemple on peut citer que Kolb et al ont montré que ces composés se comportent comme des unités de liaison rigides, donc ils peuvent imiter les propriétés électroniques des liaisons amides sans la même susceptibilité de clivage hydrolytique (**Kolb et al., 2003**).

L'arrivée des triazolés dans les années quatre-vingt-dix a élargit les possibilités thérapeutiques (**Eggimann et al., 2003**). En 1983, le premier triazolé fait son apparition : le kétoconazole, suivi de près par la terbinafine, représentant de la classe des allylamines, ensuite plusieurs triazolés vont être introduits successivement sur le marché le fluconazole (en 1990),

l'itraconazole(1993), le voriconazole (2002) et le posaconazole (2006) (**Hincky, 2011**).

De plus, Les fongicides triazoles ont gagnés un regain d'intérêt, notamment dans les régions des États-Unis sous la menace de la rouille asiatique du soja, Cette famille chimique de fongicides se compose de nombreux membres (**Butzen et al., 2005**) comme base de lutte chimique pour la gestion des maladies durable dans les systèmes agricoles.

II. Définition de triazole :

Les triazoles font partie de la famille des azoles, des composés organique hétérocyclique 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.

Selon la position des atomes d'azote, on distingue deux isomères sont tous d'origine synthétique et n'existe pas à l'état naturel, on distingue deux types :

- 1, 2,3- triazoles ou v-triazoles (**Bachman et al., 1946**).
- 1, 2,4-triazole ou s-triazoles (**Morgan et al., 1916**).

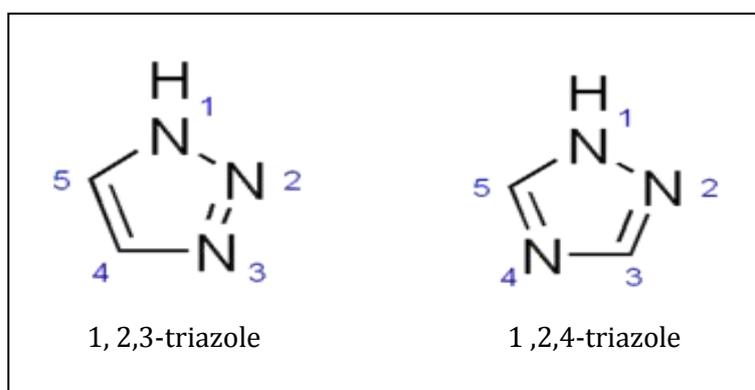


Figure 01 : les deux isomères (**Bentiss, 2006**).

II.1. 1, 2,3- triazoles :

Les 1.2.3-triazoles sont des composés hétérocycliques non naturels dont leur première a été décrite a la fin de 19eme siècle par Pechmann (**Pechamann, 1888**) , ils possèdent une structure pseudo-aromatique, qui se traduit notamment par une interaction entre les liaisons π , ainsi qu'un grand moment dipolaire et une grande capacité à former des liaisons hydrogène Ainsi, les 1,2,3-triazoles existent sous la forme 2H-1,2,3-triazole en phase

gazeuse et sous les formes 1H-1,2,3-triazole et 2H-1,2,3-triazole en phases solides et liquide (Abboud et al., 2001).

II.2. 1, 2,4-triazole :

Des différentes réactions chimiques montre que 1.2.4-triazole est un noyau extrêmement stable il peut être considéré comme un composé aromatique (Bladine et al., 1885). Il existe sous deux formes tautomère, la dénomination adoptée dans les * chemical abstract * reste néanmoins celle de 1.2.4-triazole en précisant sur quelle azote se trouve l'hydrogène. Afin de réaliser la représentation correcte de sa structure elle est nécessaire de prendre en considération leur caractère amphotère, la mobilité de l'atome d'hydrogène lié à l'atome de l'azote, la grande stabilité du cycle, ainsi que l'importance du moment dipolaire. Nous pouvons noter tout foie que le caractère aromatique de 1,2,3-triazole est plus prononcé que celui de 1,2,4-triazole (Bentiss et al., 1999).

III. Propriétés physicochimique des triazoles :

Les triazoles sont des produits sous forme des poudres cristallines peu volatils et peu persistants. ils sont généralement commercialisés sous forme des solutions liquide (Jargot et al., 2010). Les constituants de cette famille se présentent sous forme solide faiblement miscible dans l'eau (de l'ordre de quelques milligrammes par litre) (Gouzy, 2006), ils sont très solubles dans les solvants polaires et peu soluble dans les solvants apolaire du fait de leur moment dipolaire élevé (1.77D pour les 1.2.3-triazoles et 3.17D pour les 1.2.4-triazoles) mais la solubilité dans les solvants apolaires peut toutefois être augmentée par substitution sur l'atome d'azote (Jensen et al., 1943).

Les TRZ possèdent un moment dipolaire plus élevé que les liaisons amide, ce qui leur confère des propriétés électrophiles et nucléophiles proches de celles des liaisons peptidiques. En effet, les atomes d'azote du triazole sont accepteurs de liaison hydrogène, tandis que le proton du triazole, très polarisé, peut jouer le rôle de donneur de liaison hydrogène, au même titre que le proton d'une fonction amide (Horne et al., 2003).

De plus, Les TRZ ont la particularité d'avoir une grande stabilité chimique, ils sont inertes vis-à-vis des différents agents d'hydrolyse, d'oxydation, de réduction, ou d'autres modes de clivage. (Manetsch et al., 2002). Cependant certains dérivés sont explosifs comme dans le cas du 3-nitro-1,2,4-triazolo-5-one (Ostrovskii et al., 1999).

Par ailleurs, leur liaison aux protéines plasmatiques et les érythrocytes est proche de 100% ce qui implique que les azolés ne sont pas dialysables (Lortholary et al., 1999).

Ajoutant que les TRZ possède d'excellentes caractéristiques d'absorbance de lumière ultraviolet dans la gamme de longueur d'onde et peut être détectée de manière fiable dans des applications typiques de l'eau de refroidissement (analyse à des concentrations de 1 ppm et plus).

Tableau 01 : le tableau suivant résume quelques propriétés physico chimiques des triazoles (Abboud et al., 2001).

Molécule	%N	Tf (°c)	Teb(°c)	Pka	$\Delta H f$ (KJ/Kg)	Moment dipolaire (10^{-3}) cm
1, 2,3-triazole	61	23	203	9,4	2690	3.23
1, 2,4-triazole	61	121	260	10,1	2345	9.61

IV. Classification des triazoles :

IV.1. La première génération :

Le fluconazole : c'est un agent fongistatique actif contre *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, et *Candida glabrata*. Il est également utilisé pour traiter la méningite, la cryptococcose méningée, systémique et muqueuse candidose chez les patients normaux et immunitaire est affaibli (Groll et al., 2001).

L'itraconazole : présente une activité fongicide souche-dépendante contre les champignons filamenteux, à l'exception de certaines souches de *Cryptococcus neoformans*. Il est pris pour traiter les infections fongiques des ongles et qui commencent dans les poumons et se répandent dans tout le corps (Manavathu et al., 1998).

IV.2. La deuxième génération :

Le voriconazole : c'est le traitement de première intention de la candidose oesophagienne, candidémie, l'aspergillose invasive, *Candida* infections de la peau, les infections de l'abdomen, des reins, la paroi de la vessie, les blessures et les infections causée par *Scedosporium apiospermum* et *Fusarium spp* (Espinel et al., 2001).

Le posaconazole : c'est un analogue hydroxylé de l'itraconazole. Il possède un large spectre d'activité antifongique contre diverses souches de champignons tels que *Candida* spp résistant aux azoles âgées, *Cryptococcus*, néoformans *Aspergillus* spp, *Rhizopus* spp, *Bacillus dermatitidis* et d'autres champignons filamenteux et dimorphiques opportunistes (Loit et al., 1997).

Le ravuconazole : c'est un triazole très actif contre un large spectre de champignons, y compris *Candida* néoformans et d'autres espèces de levures, ils ont une activité inhibitrice contre d'autres espèces de champignons filamenteux hyalines et zygomycètes et moules noires ainsi que les isolats qui sont résistants au fluconazole. (Pfaller et al., 2002)

V. La synthèse des triazoles :

De nombreuses méthodes de synthèse des triazoles ont été décrites dans la littérature. Parmi celles-ci, la plus importante et la plus utile, c'est la cycloaddition 1,3 dipolaire entre un azoture et un alcyne, dans lequel un azide et un alcyne subissent une réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire réaction (Gilchrist, 2014) en présence d'un catalyseur tel que le cuivre ou ruthenium. Cette réaction de cyclisation connue sous le nom de cycloaddition de Huisgen alcyne-azide (Amblard et al., 2009) a été développée au début des années 60 par Huisgen (Huisgen et al., 1961), elle est devenue très populaire depuis que Charless et Meldal ont rapporté séparément sa version Cu(I)-catalysée, permettant ainsi une amélioration spectaculaire de la vitesse et de la régiosélectivité (Rostovtsev et al., 2002) elle a trouvé de nombreuses applications dans divers domaines de la chimie (Binder et al., 2008).

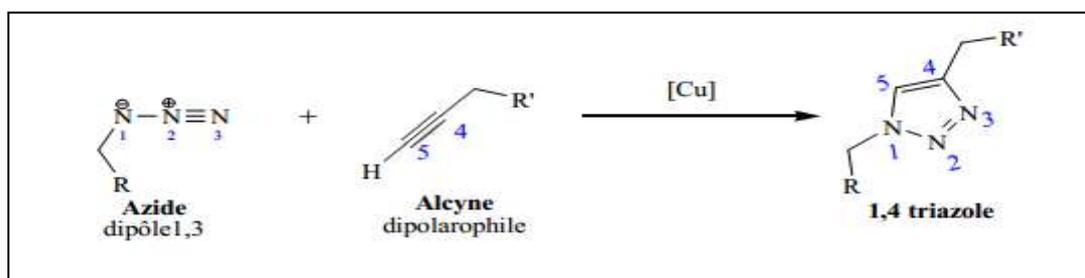


Figure 02 : Cycloaddition 1,3-dipolaire azide/alcyne de Huisgen (Huisgen et al., 1964).

VI. Le mode d'action biochimique :

Les TRZ sont très spécifiques dans leur mode d'action, ils inhibent la biosynthèse des stérols, une composante essentielle de l'intégrité des membranes cellulaires fongiques (**Butzen et al., 2005**), ils agissent en bloquant le site actif de l'enzyme connue sous le nom de l'anosterol 14 α démethylase, cette enzyme appelée CYP51 appartient aux isoenzymes des cytochromes P450 des mitochondries des cellules fongiques. Elle permet chez le champignon la transformation du lanostérol en ergostérol (**Granier, 2000 ; Vandeputte, 2008**).

Cette transformation de 14 α methyl stérols en ergosterol est dépendante de l'activation du cytochrome P450. L'inhibition conduit à une accumulation de précurseurs dans la chaîne de synthèse : lanostérol et divers 14-méthylstérols (**Lortholary, 1999**) ce qui aboutit à l'inhibition de la croissance du champignon.

Sur le plan moléculaire, un des atomes d'azote le N-4 de triazolés se lie à l'atome de fer de l'hème situé dans le site actif de l'enzyme (**Yu et al., 2010**), du cytochrome P450, inhibant ainsi l'activation de ce cytochrome et par conséquent le fonctionnement enzymatique.

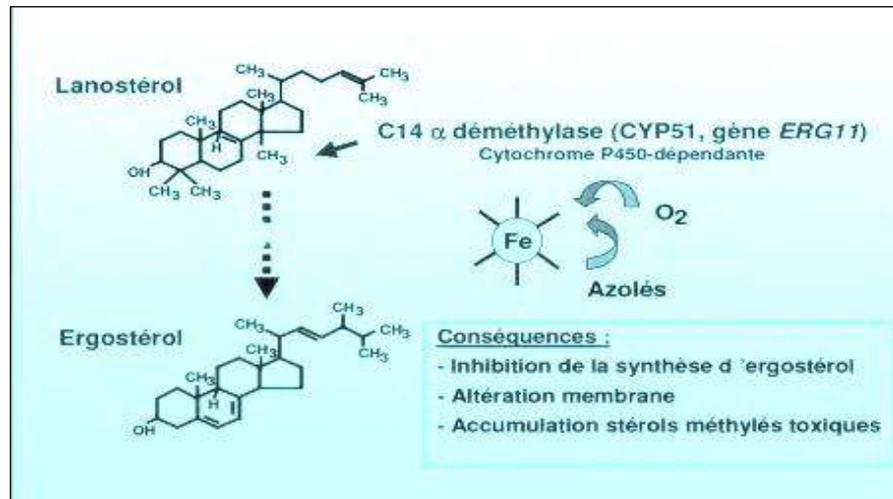


Figure 03 : mécanisme d'action des triazoles (**Yu et al., 2010**).

VII. Domaines d'application des triazoles :

L'importance des squelettes hétérocycliques à cinq chaînons à noyau triazole ont attirés beaucoup d'attention à cause de leurs vastes profils biologiques. Ils sont signalés à montrer un large spectre d'applications (**Burghate et al., 2008**) réussies notamment en médecine humaine vétérinaire, produits agrochimiques et industrielles.

VII.1. Applications agricoles :

Les TRZ représentent la catégorie la plus importante de fongicides à ce jour, grâce à leur excellente puissance protectrice et curative (YS Wu et al., 2001), cette classe des fongicide ont réduit considérablement la sévérité de la maladie par leur longue durée de protection et leur large spectre d'activité (Gold et al., 1993), ils sont parmi les fongicide les plus utilisés dans le monde comme des outils importants contre les maladies des gazons résidentiels et commerciaux (Ambre et al., 2006), les légumes, les agrumes, les grandes cultures et les plantes ornementales. Ils peuvent être facilement obtenus dans les centres de détail jardin et pépinière par application sous forme de pulvérisations et les traitements de semences foliaires (Butzen et al., 2005). Certains fongicides triazoles ont des propriétés anti-sporulant, ce qui signifie qu'ils inhibent la production de spores et donc aident à ralentir le développement de la maladie (Mueller, 2006).

Les TRZ ont été rapportés dans la littérature qu'ils sont utilisés depuis plusieurs décennies contre la septoriose, conservent toujours une efficacité correcte même si une érosion a été constatée au cours des dix dernières années. Le développement de souches faiblement à moyennement résistantes résulte d'une ou plusieurs mutations génétiques au niveau de la cible de ces triazoles (Parsi, 2006).

Aujourd'hui, en agriculture le contrôle des champignons tels que *Septoria tritici* ou *Gibberella zeae* repose en grande partie sur les triazoles (Klix et al., 2007), ils sont les seuls fongicides actuellement utilisés depuis 2004 dans la lutte chimique contre le développement de *Pseudocercospora musae*, Ils bénéficient d'un spectre d'efficacité très large contre les principales maladies des céréales (blé, orge, seigle, triticales), en particulier la protection foliaire du blé et la lutte contre les maladies foliaires (l'époxiconazole et le metconazole) de l'épi, oïdium et rouilles, le piétin verse et de nombreux champignons taches foliaires (Mueller, 2006).

VII.2. Application pharmaceutique :

Les médicaments antifongiques azolés ont introduit une nouvelle ère dans la chimiothérapie antifongique. Ils appartiennent à une classe de composés particulièrement actifs possédant un large spectre d'activités anticonvulsivant chimio thérapeutiques, y compris : antibactérienne (Genin et al., 2000) antivirales, (Masuda et al., 1975) antimicrobienne (Turan et

al., 2005), anti-inflammatoire (Almasirad et al., 2004) antituberculeux (Walczak et al., 2004) anticancéreuse et anti HIV (Holla et al., 2002).

Les triazoles ont également été incorporés dans une grande variété de médicaments thérapeutiquement intéressantes, y compris H_1 / H_2 de l'histamine bloqueurs de récepteurs, les stimulants du SNC, les agents anti-anxiété et les sédatifs (Schreier et al., 1976)

Les motifs triazoles sont présentés dans de nombreux médicaments ils sont incorporés dans la structure de certains antibiotique comme par exemple le tazobactame ou la céfatrizine (Micethich et al., 2000), les caractéristiques portés par ces molécules c'est de rendre les molécules pharmaceutiquement importants (Bourne et al., 2004).

Certains études montre que l'évaluation du potentiel biologique des 1, 2,3-triazoles montre une activité cytotoxique, la mise on évidence de cette activité isolés révèle une activité supérieur à celle de la céramide (Kim et al., 2007) ils sont également décrit pour présenter une activité inhibitrice efficace contre les mycobactéries de la tuberculose (Costa et al., 2006), dans la même contexte certaines dérivés triazoliques montrent une activités remarquable contre la leucémie et contre le cancer de poumon (Al-Soud et al., 2003).

Les TRZ modernes étaient les traitements efficaces des infections fongiques (Eumycétome) locales et systémiques (Yoann et al., 2014). Ils sont actuellement approuvés que pour utilisation comme prophylaxie contre les IFI chez les patients (Cornely et al., 2006).

Des études a été signalé que des composés ayant des groupements triazole, tels que le vorozole et létrozole semblaient être des inhibiteurs de l'aromatase très efficaces, qui à son tour empêché cancer du sein (Abdul rauf et al., 2012). Autres recherches ont était testé in vitro que l'acylation de certains aminotriazoles donne des triazoles amides qui inhibent spécifiquement le virus de la rubéole (Tamas et al., 1986).

Un nouveau triazole série chimique a été montré pour inhiber la tubuline polymérisation et provoquer l'arrêt du cycle cellulaire en A431 cancer des cellules avec des CE (50) des valeurs dans la gamme unique chiffre nanomolaire. Binding expériences ont démontré que les composés actifs représentatifs de cette classe sont en concurrence avec la colchicine pour son liaison site sur la tubuline (Ouyang et al., 2005).

VII.3. Application industrielle :

Leur nombreuse propriété ont suscité un grand intérêt dans l'industrie chimique en effet, il faut souligner les multiples applications de ces composés notamment en tant qu'herbicide, fongicide et agent antimicrobiens (**Bentiss et al., 2001**).

Dans le domaine des matériaux, les TRZ sont utilisés comme pigments, inhibiteur organique de corrosion, photo stabilisateurs et matériaux photographique (**Calderone et al., 2002**), quelques dérivés de 1,2,3-triazoles décrit par Wang et coll possèdent même des propriétés fluorescentes destinées à des applications dans la bio conjugaison et la bio imagerie (**Sivakumar et al., 2004**).

Un nombre important d'articles, de revue, d'outre ouvrages ont évoqué l'utilisation des triazoles comme inhibiteurs de corrosion des métaux en milieu acide (**Schmitt et al., 1984**), même à très basses concentrations (**Ouici et al., 2012**), ces composés dont les deux représentants majeurs sont le benzotriazole et son dérivé méthylé le tolyltriazole, sont des inhibiteurs de corrosion massivement utilisés dans de nombreux produits comme les liquides antigels, les liquides de refroidissement, les fluides hydrauliques et de coupe de métaux ou les détergents pour vaisselle. Leur toxicité est très peu connu mais leur caractère de résistance à la biodégradation est avéré et les rend préoccupants. Diverses études démontrent que ces produits sont omniprésents dans les eaux de surface suisses (**Walter et al., 2006**), parallèlement d'autres triazoles ont également été décrits pour la protection du bois de l'attaque fongique (**Bass et al., 1984**).

Les TRZ ont été également proposées comme produits de remplacement de l'eau dans les conducteurs de protons utilisés dans les piles à combustible une fois dopée en membranes, ces triazoles améliorer la conductivité des membranes dans des conditions anhydres. En raison de leur nature amphotère, ces composés agissent comme accepteurs de protons et les donateurs (**Subbaraman et al., 2007**).

VII.4. Application dans la synthèse chimique :

Les triazoles sont principalement utilisés comme intermédiaires dans la synthèse de principes actifs pour l'agrochimie (fongicides, herbicides) et la pharmacie. Certains grades sont également utilisés dans des solutions chimiques pour améliorer le degré de pureté des composants dans l'industrie électronique.

Des travaux montrent que le groupe triazole 1,4-disubstitué présente une similarité structurale avec les liaisons amides. En effet, ce triazole est considéré comme mime de la forme rotamère Z d'une fonction amide, servir de ligand pour les métaux ou lier différentes molécules de complexité variées cette capacité des triazoles pour former un pont entre des ions métalliques tels ligands fait très importante pour les applications magnetochemical (**Tron et al., 2008**).

Des unités triazole sont également utilisées dans certains cas pour remplacer des liaisons interpeptidiques tout en conservant l'activité biologique initiale. Ils sont notamment utilisés en tant qu'analogues d'acides aminés (**Demko et al., 2002**).

Les TRZ sont des précurseurs précieux pour les sels de cations radicalaires en raison de leur potentiel d'oxydation et la variété des interactions intermoléculaires possibles (**Thomas et Narcis, 2014**). Récemment, des triazoles obtenus par CuAAC ont été utilisés comme précurseurs d'une nouvelle classe de ligands carbènes N-hétérocycliques non classiques (**Mathew et al., 2008**).

En outre, Les ligands dérivés de triazole envisagés ont été construits pour chélater le métal par un azote du triazole et une fonction exocyclique permettant de former des cycles à 5 ou 6 chaînons selon la nature du ligand, il présente ainsi une grande polyvalence pour la préparation des matériaux de coordination (**Aromi et al., 2011**).

VIII. la toxico-cinétique du triazole :

❖ Absorption :

Le triazole est rapidement absorbé après administration orale. Les concentrations plasmatiques maximales sont atteintes dans les 2,5 heures suivant l'administration de la solution orale dans des conditions à jeun. (**Janssen, 2013**). la comparaison de l'excrétion urinaire du triazole après administration unique d'une faible dose par voie orale et intraveineuse montre que sa biodisponibilité atteint 100% en 96h chez les rats (**Jargot et al., 2014**).

❖ Distribution :

La majeure partie de triazole (l'itraconazole) dans le plasma est liée aux protéines (99,8%), avec l'albumine comme principal composant de liaison (99,6% pour le métabolite hydroxy). Il présente aussi une affinité marquée pour les lipides. Seul 0,2% de triazole est

présent librement dans le plasma. Il présente un important volume de distribution apparent dans l'organisme ,ce qui laisse suggérer une distribution étendue dans les tissus, les concentrations dans les poumons, les reins, le foie, les os, l'estomac, la rate et les muscles se sont avérées deux à trois fois plus élevées que les concentrations correspondantes dans le plasma, et l'assimilation dans les tissus kératinisés, la peau en particulier, est jusqu'à quatre fois plus élevée que dans le plasma. Les concentrations dans le liquide céphalo-rachidien sont beaucoup plus faibles que dans le plasma, mais l'efficacité du médicament a néanmoins été démontrée contre des infections présentes dans le liquide céphalo-rachidien. (Janssen, 2013)

❖ **Métabolisme :**

Le TRZ est largement métabolisé en faibles quantités sous forme inchangée sont retrouvés dans les urines et les fèces après administration par voie orale chez les rats (Jargot et al., 2014). Des études in vitro ont montré que le voriconazole est métabolisé par les isoenzymes du cytochrome hépatique P450, CYP2C19, CYP2C9 et CYP3A4. La variabilité interindividuelle du profil pharmacocinétique du voriconazole est importante. Des études in vivo ont montré que le CYP2C19 joue un rôle significatif dans le métabolisme du voriconazole son métabolite principal est le N-oxyde, qui représente 72 % des métabolites radio-marqués circulant dans le plasma. Ce métabolite a une activité antifongique minime, il ne contribue pas à l'efficacité globale du voriconazole. (Lannelongue, 2010).

❖ **Élimination :**

Le TRZ est éliminé par métabolisation hépatique ; moins de 2 % de la dose étant excrétée sous forme inchangée dans les urines. Après administration d'une dose radio-marquée de voriconazole, environ 80 % de la radioactivité est retrouvée dans l'urine en cas d'administrations intraveineuses répétées, et environ 83 % en cas d'administrations orales répétées. La plus grande partie (>94 %) de la radioactivité totale est excrétée dans les premières 96 heures suivant l'administration, qu'elle soit orale ou intraveineuse (Lannelongue, 2010).

IX. Les effets toxiques du triazoles :

Communément utilisés comme agents antifongiques dans l'agriculture et la médecine, les triazoles ont été tératogène dans un ensemble diversifié de modèles animaux (**Robinson et al., 2012**).

IX.1. Effets sur la santé humaine :

La toxicité de triazole et son potentiel à produit des effets nocif sur la santé, à courte ou long terme, l'évaluation des effets toxiques des triazoles est complexe car de nombreux paramètres sont à considérés la nature de composé, la durée d'exposition et ses variations et la nature libre ou liée des résidus (**Capkin et al., 2006**). Les études de toxicité à court terme et chronique sur des animaux de laboratoire révèlent que le foie, les reins et plusieurs glandes endocrines constituent les principales cibles.

IX.1.1. Effet hépatique :

L'exposition aux triazoles provoque des effets sur le foie qui se manifeste d'abord par une augmentation du poids, une hypertrophie hépatocellulaire centrolobulaire et de la cytotoxicité (nécrose des hépatocytes). Des modifications du métabolisme lipidique chez le rat à court terme, ont été détectées dans une étude chronique. En général, les effets hépatiques à court terme constatés chez les rongeurs ne s'accroissent pas sensiblement lors d'une exposition chronique. Aux doses plus élevées ou lors d'une exposition chronique, on note les autres effets suivants dans le foie des rongeurs : 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. L'exposition chronique des souris à des doses élevées entraîne l'apparition de masses à zone sous-capsulaire bombée, pâle ou foncée (**Nesnow et al., 2009**).

XI.1.2. Effet sur le système endocrinien :

L'administration à court terme au triazole provoque des effets endocriniens chez le rat. On constate une diminution du poids des surrénales chez le rat mâle. Des doses plus élevées affectent également le poids de l'hypophyse, des testicules, de l'utérus et des ovaires chez le rat. Les effets sur les glandes surrénales et l'hypophyse s'estompent rapidement chez le rat. En revanche, à plus long terme, on note une réduction voire une absence complète de corps jaunes chez la ratte. L'évolution des taux sanguins des hormones de l'ovaire et du cortex surrénalien (aldostérone, corticostérone, progestérone et testostérone) concorde avec les doses et les

altérations du poids de ces structures. À long terme, on observe également une incidence accrue de distension utérine par des fluides et de métaplasie pavimenteuse des glandes endométriales (A.R.L.A.S, 2012).

XI.1.3. Effet rénale :

Après une exposition à court terme au triazole, la toxicité rénale est plus marquée chez le chien, peu évidente chez le rat et absente chez la souris. Chez le chien et le rat, les effets incluent une augmentation du poids des reins et une légère augmentation des concentrations ioniques du sang. Chez le chien, on note également une hypertrophie des reins et des tubules corticaux, la présence de corps apostoliques ainsi que des altérations transitoires de la chimie urinaire. On constate peu d'effets durables chez le rat (pyélite accrue, basophilie des tubules corticaux et légers changements de la chimie urinaire). Dans la plage de doses faibles à intermédiaires, une augmentation de la masse des reins constitue le seul effet évident dans l'étude murine chronique. Les autres effets surviennent seulement aux doses liées à une mortalité accrue (A.R.L.A.S, 2012).

IX.1.4. Effet sur le système nerveux :

Certain travaux montrent que l'exposition aux triazoles, en général provoque une neurotoxicité, à la fois centrale et périphérique et des lésions neurologique chez le rat (EPA, 2006), ainsi une augmentation de la sécrétion des facteurs qui sont connus pour affecter l'apprentissage et la mémoire spatiale (Lathe, 2001). Des rats exposés à des fortes doses aiguës de tétraconazole présentent des anomalies fonctionnelles du système nerveux. L'activité motrice diminue chez les deux sexes le jour de l'exposition et des signes cliniques transitoires se manifestent pendant un à plusieurs jours chez les femelles (A.R.L.A.S, 2012), cette exposition a été associée à une diminution du rendement dans la tâche d'apprentissage. Les auteurs classés à juste titre ce fongicide triazole comme une substance neurotoxique potentielle ciblant spécifiquement l'hippocampe (Moser et al., 2001).

IX.2. Effets écologiques :

IX.2.1. Impact environnementale :

D'un point de vue écologique les triazoles ne sont pas des produits anodins en effet ils sont responsable de nombreux effets toxique secondaires causant des risques potentiels pour l'environnement (Relyea, 2009).

IX.2.2. Effet sur les mammifères :

Les animaux absorbent les produits triazoliques via la nourriture ou l'eau d'alimentation via l'aire respiré ou au travers de leur peau ayant franchi divers barrières le toxique atteint les sites de métabolisme ou il est stocké, cette exposition peut engendrer chez les mammifères tout une gamme d'effets dont des baisses spectaculaires de fertilité souvent remarqué (François, 2010).

IX.2.3. Effet nocif sur la faune aquatique :

Les TRZ et leurs dérivés peuvent provoquer des dégâts importants sur la faune aquatique en effet même si la mortalité des poissons représentent les effets les plus spectaculaire les autres composantes de l'écosystème aquatique sont aussi affectées par les effets néfastes des pesticides (François, 2010).

X.2.4. Effet nocif sur la microflore de sol :

La microflore est essentiel pour le maintien de la fertilité de sol, or même si les traitements sont le plus souvent appliqué sur les parties aérienne des plantes plusieurs études ont montré que l'emploi massif de fongicide peut avoir des répercussions majeures sur les autres invertébrés (Relyea, 2009).

I. Généralité :

L'importance biologique du foie humain est attestée par son volume et par sa densité cellulaire, il représente le 1/50 du poids du corps, formant ainsi la masse viscérale la plus volumineuse de l'organisme, avec près de trois cents milliards de cellules. Sa situation lui permet d'accomplir des fonctions indispensables à la vie (**Arnaud, 2009**).

Le fonctionnement du foie va au-delà de la simple participation à la digestion. Dans la digestion, le foie est le premier organe que les nutriments rencontrent après leur absorption. Il met en réserve les nutriments, ensuite les libère au moment voulu vers les organes plus périphériques (**Sautet, 2010**).

Cette glande effectue beaucoup de fonctions, même si pas toutes sont liées à la digestion, il constitue le plus grande glande et le principale pool métabolique de l'organisme (**Norbert, 2006**). Le foie a un rôle même dans la régulation du débit sanguin essentiellement lié au volume de l'organe qui pèse 1 500g (**Sautet, 2010**).

La foie est un véritable laboratoire biochimique, il participe à plus de 500 réactions chimiques différentes grâce à la grande quantité de sang que lui apportent l'artère hépatique, provenant du cœur, et la veine porte hépatique, issue de l'intestin grêle. Il fabrique notamment de la bile, du cholestérol et des protéines, stocke du glucose, du fer et des vitamines, et dégrade certains produits toxiques contenus dans le sang, comme l'alcool (**Jacques., 2001**).

Cette glande est un organe à la fois endocrine et exocrine, Sa principale fonction exocrine est la sécrétion de la bile dans le tube digestif. Sa fonction endocrine est de contrôler la composition du sang qui provient du tube digestif qui va être dirigé vers la circulation générale (**Sautet, 2010**).

Du fait de sa position immédiatement en aval de la circulation sanguine intestinale, des dégâts irréversibles peuvent se constituer silencieusement. Il constitue le siège de nombreuses maladies : infectieuses, parasitaires tumorales, toxiques. Cet organe est si important que sans le foie une personne ne survit que quelques heures. De ce fait en cas de graves problèmes de foie seulement une greffe pourra sauver la vie du patient.

II. Définition :

Il s'agit d'une glande annexe au système digestif, le plus volumineux organe du corps humain, qui pèse en moyenne chez l'adulte 1500 grammes (**Jacques, 2008**). A frais, il est de couleur brun rouge, de consistance molle, il contient entre 800 et 900 grammes de sang, c'est un organe très vascularisé (**Gosling et al., 2002**).

Ces dimensions sont variables d'un individu à un autre, mais en général, il mesure entre 25 et 30 cm de longueur sur une hauteur de 15-17 cm et avec une épaisseur de 8-10 cm. Les gros foies sont palpables dans l'hypochondre droit notamment lors des hépatomégalies (**Bouchet et Guilleret, 1983**), généralement la taille de structures varie en fonction de la proximité de hile hépatique.

III. Localisation :

Le foie est situé dans la partie supérieure droite de l'abdomen : partiellement protégé par les côtes, il est séparé des poumons et du cœur par le diaphragme (**Denis, 2014**) et occupe pratiquement l'intégralité de la partie supérieure droite de l'abdomen (**Gosling et al., 2002**) sa position met à proximité de plusieurs autres organes principaux. En tant que l'organe viscéral de la cavité adnominale, il repose à coté de l'estomac et à l'avant de la vésicule biliaire : deux organes essentiels à la digestion, d'autres organes incluent le pancréas, les intestins, et le cœur (**Norbert, 2006**).

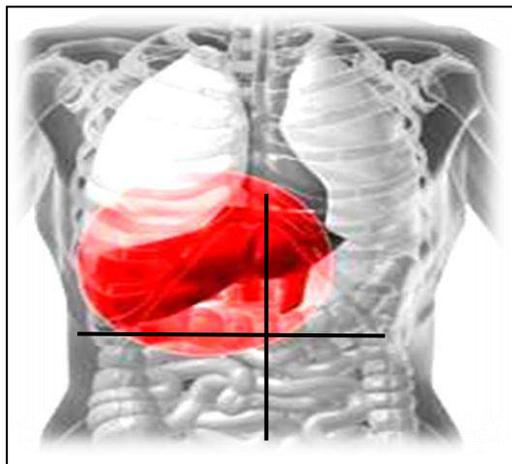


Figure 04 : l' emplacement du foie dans le corps (**Marichesse, 2014**).

IV. Anatomie du foie :

Il s'agit d'un viscère relativement plastique qui se moule sur la face inférieure de la coupole diaphragmatique droite. Il remplit l'hypocondre droit et s'étend à travers l'épigastre, jusqu'à dans l'hypocondre gauche (**Gosling et al., 2002**). Il est divisé en deux lobes séparés par le ligament falciforme (**Vilgrain, 2008**), le lobe droit (deux tiers du volume du foie) et le lobe gauche (un tiers du volume). On peut également individualiser deux autres lobes mineurs en taille : le lobe caudé (ou lobe de Spiegel) et le lobe carré (**Susan, 2008**).

Sur le plan anatomique, il apparaît triangulaire avec trois faces :

- Face supérieure ou diaphragmatique :

Convexe et lisse moulés sur le diaphragme. Large dans sa partie droite, progressivement effilée vers la gauche, elle présente à l'union de ses deux tiers l'insertion du ligament supérieur ou falciforme qui sépare le foie en deux lobes inégaux droite et gauche (**Bouchet et Guilleret, 1983**).

- Face inférieure ou viscérale :

Elle est oblique en bas, en avant et vers la gauche. Elle est parcourue par trois sillons dessinant grossièrement la lettre H :

Le sillon transversal correspondant au hile hépatique (porta hépatique), point de pénétration ou d'émergence des éléments du pédicule hépatique.

Le sillon droit correspondant au lit de la vésicule biliaire ou fossette cystique.

Le sillon gauche qui contient dans sa moitié antérieure le reliquat fibreux de la veine ombilicale gauche.

Ces trois faces divisent la face inférieure du foie en quatre zones distinctes :

- ❖ Une partie droite correspondant seulement à une partie de ce qui paraissait, le lobe droit sur la face supérieure.
- ❖ Une partie gauche correspondant au lobe gauche précédemment décrit.
- ❖ Une partie centrale antérieure, le lobe carré, appartenant au lobe droit.

- ❖ Une partie centrale postérieure, le lobe de Spiegel, qui appartient en fait essentiellement à la face postérieure du foie.

Face Postérieure verticale :

La plus étroite, de forme triangulaire à base droite, est pratiquement verticale et se moule sur la veine cave et sur la convexité de la colonne vertébrale. Elle est traversée par deux sillons : le sillon vertical droit et sillon vertical gauche, qui contient le canal d'Arantius (Bouchet et Guilleret, 1983).

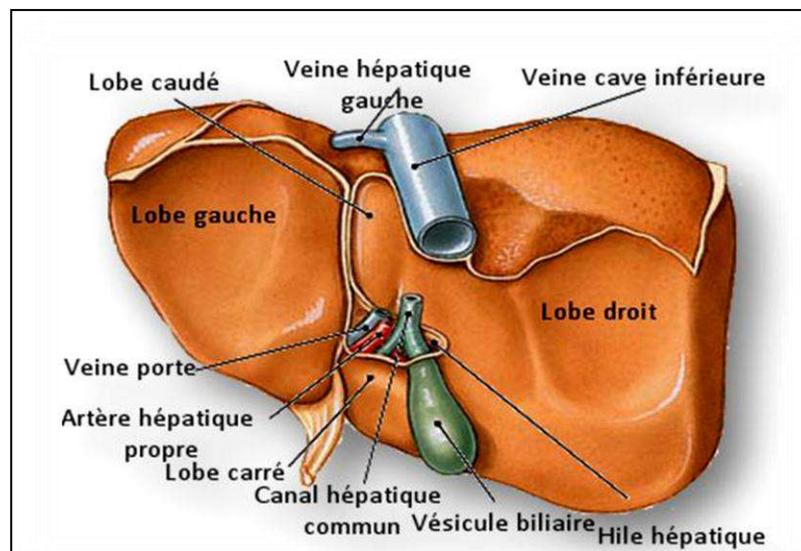


Figure 05 : Anatomie de foie (vue inférieur) (Bouchet et Guilleret, 1983).

V. Segmentation :

Selon la segmentation hépatique de Couinaud (1957), le foie est divisé en secteurs, les branches de division de la veine porte délimitent ces secteurs du foie en huit segments numérotés de I à VIII sur la face inférieure du foie dans le sens inverse des aiguilles d'une montre (Denis et al., 2006) :

- ❖ Le segment I correspond au lobe caudé ou de Spiegel et à la partie du foie en avant de la veine cave.
- ❖ Les segments II et III correspondent au secteur latéral gauche.
- ❖ Le segment IV correspond au secteur médial gauche.

- ❖ Le segment V correspond à la partie inférieure et le segment VIII à la partie supérieure du segment antérieur droit.
- ❖ Le segment VI correspond à la partie inférieure et le segment VII à la partie supérieure du segment postérieur droit (**Denis et al., 2006**).

Le foie gauche comporte les segments II, III et IV ; le foie droit comporte les segments V, VI, VII et VIII .Le segment I est quant à lui partagé entre les deux. Cette segmentation est essentielle pour la chirurgie hépatique puisqu'elle permet l'ablation d'un segment sans gêner la vascularisation des autres segments (**Denis et al., 2006**).

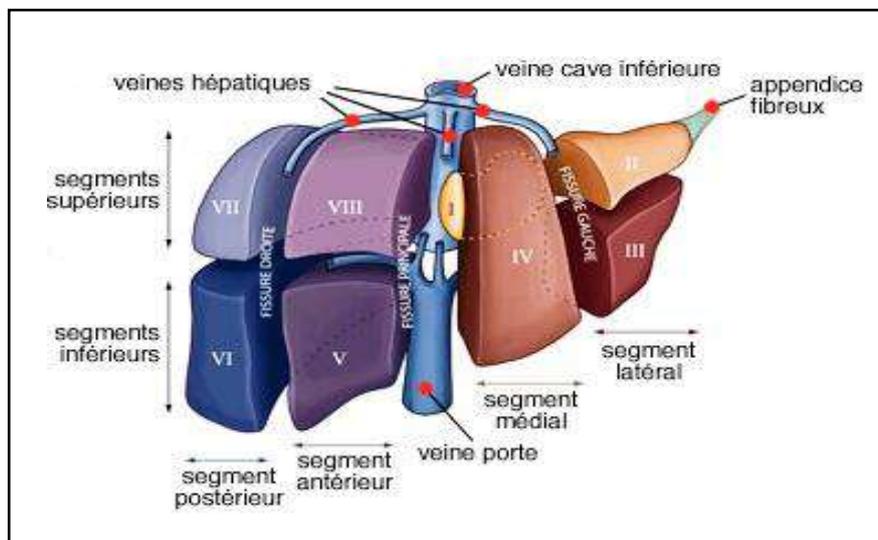


Figure 06 : les segments de foie (**Nadine et al., 2010**).

VI. Innervation :

Logiquement, l'innervation du foie est assurée par les fibres nerveuses sympathique et parasympathique. La particularité réside dans le fait qu'elles forment une espèce de plexus commun : il y en a deux (antérieur et postérieur) qui sont formés au niveau du hile : une en avant de la structure vasculaire et un en arrière. A partir du plexus, les fibres qui entrent dans le foie en suivant les cloisons fibreuses vont jusqu'aux cellules sur lesquelles les terminaisons nerveuses vont agir (**Sautet, 2010**).

VII. Types cellulaires :

Le foie caractérisé par une diversité cellulaire, les plus nombreuses et les importantes cellules sont **les hépatocytes** qui représentent environ 65 % des cellules (**Sautet, 2010**), elles comportent parfois plusieurs noyaux, ce sont des cellules polarisées: possèdent une face exposées au sang dont elles ne sont séparées que par un endothélium , et sur la face opposée elles constituent un réseau de canalicules biliaires par accollement de leurs membranes (**Duncan et al., 2012**).

Les cellules biliaires :

Ces cellules bordent les canaux biliaires et se trouvent à l'interface entre le milieu intérieur de l'organisme (le sang) et le milieu extérieur (la bile). Entre autres fonctions, les cellules biliaires ont, comme la plupart des cellules épithéliales, des fonctions de transport vectoriel entre ces deux compartiments, elles contribuent essentiellement à modifier la composition de la bile par des transports d'eau, d'électrolytes et de macromolécules entre la bile et le milieu intérieur (**Evans et al., 1980**).

Les cellules de Kupffer :

Représentent environ 10 pour 100 des cellules. Ce sont des macrophages résidents et qu'elles ont des attaches avec les cellules endothéliales. Elles ont un rôle important pour phagocyter un certain nombre d'agents biologiques qui ont traversé la barrière intestinale (**Sautet, 2010**).

Les cellules stellaires :

Elles représentent environ 5 pour 100 des cellules (**Sautet, 2010**), elles ont un rôle dans le stockage de la vitamine A; en situation pathologique, ces cellules se transforment en myofibroblastes, perdent leur réserve de vitamine A et se mettent à synthétiser de la matrice extracellulaire (**Susan, 2008**).

Les cellules sinusoidales :

Ce sont des cellules endothéliales et représentent environ 20 pour 100 de la totalité des cellules. Elles sont caractérisées par rapport à d'autres cellules endothéliales par le fait qu'elles ne reposent pas sur la membrane basale et qu'elles sont lâches : cela favorise les échanges entre le secteur sanguin et les cellules hépatiques (**Sautet, 2010**).

Il existe d'autre type des cellules : lymphocytes hépatocytaires, Cellules ovales (fonction de régénération) et des cellules endothéliales (Denis et al., 2006). Toutes ces cellules contrôlent la composition du sang qui quitte les hépatocytes (Sautet, 2010).

VIII. Histologie de foie :

D'un point de vue histologique Le foie peut être décrit sous deux modes d'organisation : Le lobule ou l'acinus.

Les lobes de foie sont formés d'un grand nombre d'unités fonctionnelles appelées lobules qui se présentent comme un ensemble d'unités hexagonales, mesurant environ 1 mm de diamètre. Ils sont irrigués par des branches de la veine porte hépatique et des branches de l'artère hépatique, chaque lobule est formé lui même d'hépatocytes disposées en rayons autour d'une veine centrale, la veine centrolobulaire, point de départ du réseau veineux hépatique de drainage (Jacques, 2001), c'est entre ces structures que vont se situer les capillaires particuliers du foie, dits capillaires sinusoides, qui irriguent la totalité du foie (Alan, 2006).

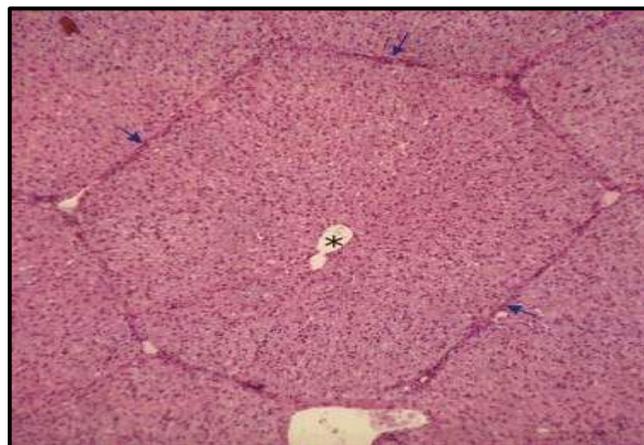


Figure 07 : la structure de lobule hépatique (foie de proc) montre au centre la veine centrale (*) qui draine le sang des vaisseaux environnants et le dirige vers les veines hépatiques (Norbert, 2008).

Les lobules hépatiques sont séparés les uns des autres par des travées de tissu conjonctif, aux quelles on donne le nom d'espace porte ou espace de Kiernan, où cheminent des vaisseaux et des canaux biliaires intra hépatiques (Denis et al., 2006). On trouve en périphérie de lobule 3 à 6 espaces portaux, le lobule et les hépatocytes sont agencés en travées qui semblent irradier à partir de la VCL, ces travées sont épaisses à monocellulaires chez l'adulte alors que chez les enfants de moins de 5 à 6 ans, ils sont constitués de deux couches de cellules. De chaque côté

des travées on retrouve une sinusoïde ce qui permet l'exposition de l'hépatocyte au sang portal des deux côtés (Arnaud, 2009).

L'espace porte est constitué d'au moins un canal biliaire, une artère et une veine. On retrouve par ailleurs un faible nombre de lymphocytes et de macrophages, d'occasionnels mastocytes, polynucléaires éosinophiles et les canaux biliaires normaux sont d'habitude en position centrale dans l'espace porte (Arnaud, 2009).

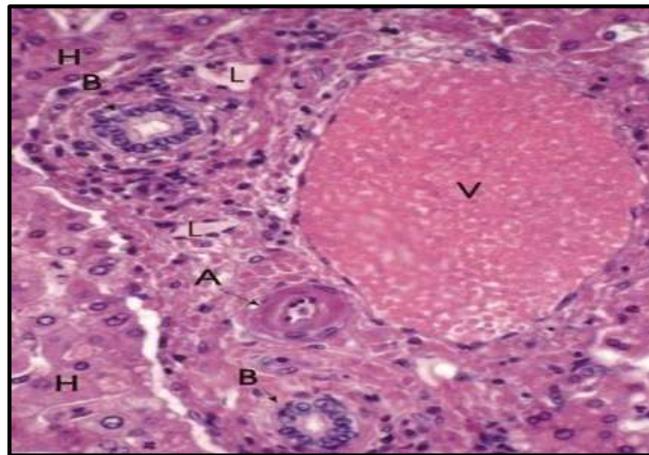


Figure 08 : photo d'un espace porte montre dans le tissu conjonctif les structures : Une grande veine porte (V), Une artériole hépatique (A), les canaux biliaires (B), Deux petits lymphatiques (L), Des hépatocytes (H) entourent l'espace porte (Alan et James, 2006).

Entre les hépatocytes adjacents on retrouve un petit espace d'un micron intercellulaire qui est le canalicule biliaire, normalement non visible dans une biopsie de foie normale (Arnaud, 2009). Entre l'endothélium et les hépatocytes, il existe un espace vide, l'espace de Disse qui renferme des cellules présinusoides (cellules de Ito). On y décèle également des fibres réticulées visible en microscope optique (Norbert, 2008).

L'hépatocyte normal est apparait polygonal, mononuclée, de 25-30 μ , cellules uniformes à cytoplasme abondant granulaire, éosinophile avec quelques vacuoles adipeuses, glycogène et lipofuchsine. Noyau central rond/ovale, parfois pléomorphe et multiple (Arnaud, 2009).

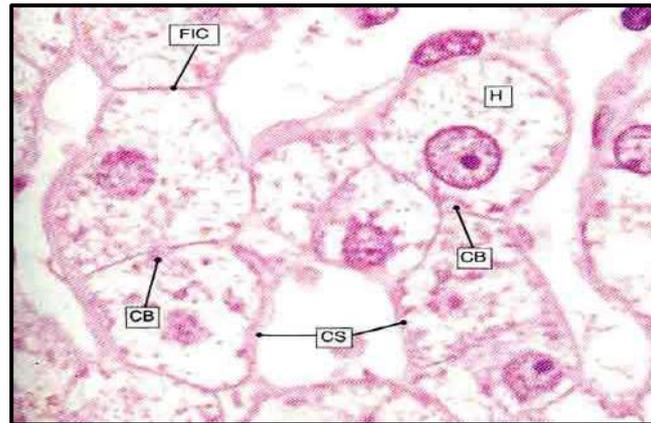


Figure 09 : Coupe fine d'inclusion en paraffine colorée à l'hématoxyline-éosine (H&E) d'hépatocytes CS : Capillaire sinusoidal ; FIC : Face intercellulaire ; CB : Canalicules biliaires ; H : Hépatocyte (Alan et James, 2006).

Les sinusoides hépatiques situés entre les travées hépatocytaires sont bordés par des cellules endothéliales et de Kupffer, ainsi que par des cellules de Ito qui peuvent présenter une surcharge lipidique en cas d'hypervitaminose A (Arnaud, 2009).

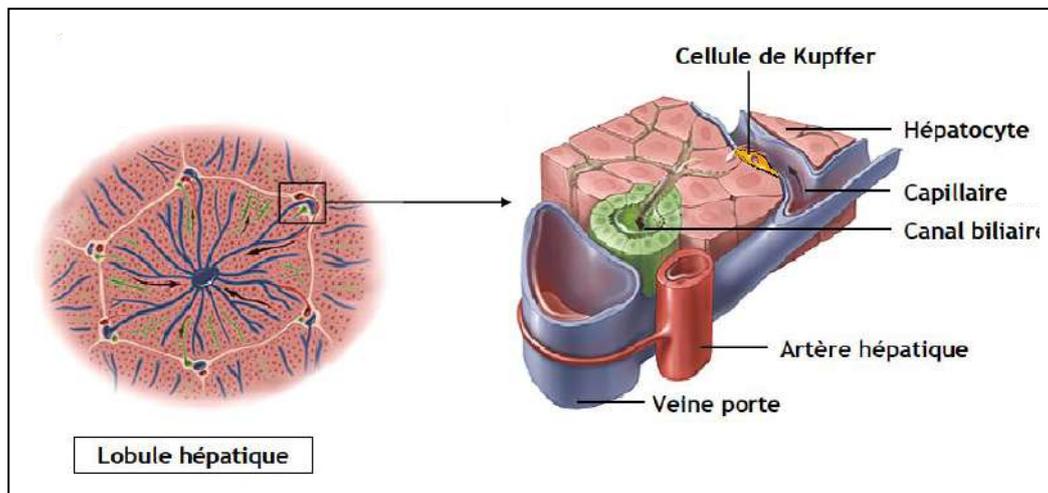


Figure 10 : l'organisation de lobule hépatique (Jacques, 2008)

Le tunique endothéliale des sinusoides renferme des cellules de en forme d'étoiles, les cellules de kupffer, qui s'insinuent dans la lumière du capillaires, elles sont très riche en lysosomes assurent l'élimination des leucocytes et des hématies usées assurent ainsi la détoxification de certains composés étrangers (Norbert, 2006), Ces unités sont visibles sous forme de petites cellules triangulaires ou étoilées avec un noyau en haricot et un cytoplasme peu évident, clair à granulaire (Arnaud, 2009).

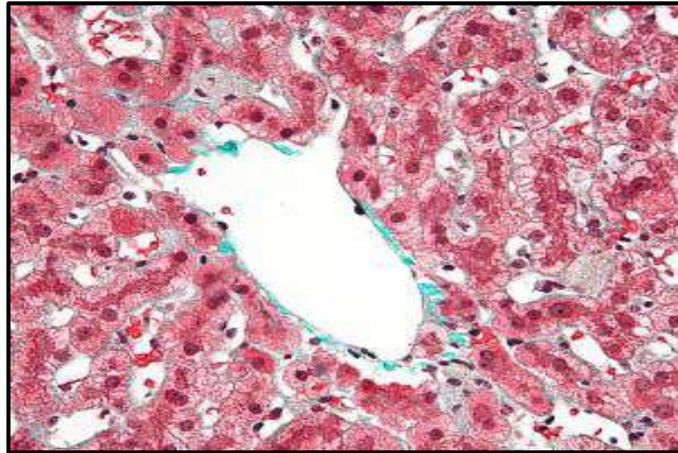


Figure 11 : les cellules de kupffer (Alan et James, 2006).

Le deuxième modèle de description histologique et qui est plus correcte, est le modèle l'acinus hépatique qui tient compte de la vascularisation avec du sang afférent provenant des artères hépatiques et des veines portes qui traversent le parenchyme pour atteindre les VCL (Arnaud, 2009). L'acinus hépatique est aussi caractérisé par une zonation métabolique due aux différences d'activités métaboliques exercées par les hépatocytes en fonction de leur position. La zone centrale de l'acinus est spécialisée dans le métabolisme oxydatif et la néoglucogenèse ; la zone périphérique assure préférentiellement la glycolyse, la biotransformation des xénobiotiques et le métabolisme de l'alcool. Les mécanismes expliquant la mise en place et le maintien de la zonation métabolique, ainsi que son adaptation aux variations physiologiques, sont complexes. Les facteurs micro environnementaux, notamment les caractéristiques de la vascularisation hépatique, jouent un rôle essentiel (Jean, 2003).

IX. Les fonctions majeures du foie :

Schématiquement on peut dire que le sang est le transporteur, le foie l'usine chimique qui traite transforme, synthétise, stocke et élimine différentes substances. Il permet le maintien de notre santé générale et de notre bien-être grâce à ses multiples fonctions dans le corps notamment :

Fonction dans le métabolisme des glucides et lipides :

- le foie joue un rôle primordial dans la régulation de la glycémie et constitue une réserve d'énergie immédiatement disponible en cas de besoin, il produit et stocke le glycogène ainsi que les composés intermédiaires du métabolisme glucidique (Alan et James, 2006).

- Les lipides et les acides aminés sont transformés en glucose stockés dans les cellules hépatiques (Alan et James, 2006).
- Le foie participe à la synthèse du cholestérol, des lipoprotéines et des phospholipides. Il synthétise les graisses à partir d'autres précurseurs (Alan et James, 2006).

Fonction dans le métabolisme des protéines :

- ✓ Production de facteurs de coagulation (fibrinogène III, V, VII, IX, XI).
- ✓ Destruction des hématies et leucocytes vieillissants mais aussi certaines bactéries présentes dans le sang.
- ✓ Transformation de la bilirubine libre en bilirubine conjuguée (Denis et al., 2006).

Fonction de stockage :

- Vitamines A, D, E, K liposolubles, vitamine B12, fer (ferritine), cuivre, glucose (sous forme de glycogène) et graisses (Christian, 2011) qui sont récupérées lors de la destruction des vieilles hématies.

Fonction dans la détoxification :

- Le foie joue un rôle crucial dans la détoxification des substances qui sont nuisibles pour le corps, notamment l'alcool, les drogues, les solvants, les pesticides et les métaux lourds par mise en œuvre d'un processus de conjugaison.
- De plus, le foie transforme et évacue les sous-produits toxiques du métabolisme normal (comme l'ammoniaque) et les excès d'hormones (en particulier, les hormones sexuelles comme l'estrogène) (Highleyman, 2004)

Finalement ajoutant que le foie a la capacité de se régénérer par lui-même en tout cas pour un foie sain. Il est d'autre part, indispensable à la survie de l'organisme (Jean et al., 2015).

X. La régénération hépatique :

Les cellules hépatiques ont une durée de vie limitée (de 300 à 500 jours). Des hépatocytes disparaissent çà et là et sont constamment remplacés par division de cellules voisines. Mais ces divisions sont rares : 1 pour 10 000 cellules. (Jean et al., 2015).

En revanche, si une partie du foie est détruite ou enlevée chirurgicalement, on constate une recrudescence de divisions cellulaires telle que le foie retrouve bientôt sa taille normale : si 75% de la masse du foie sont supprimés, il y a restitution complète du poids de l'organe en huit

semaines chez le chien, trois semaines chez le rat, quatre mois chez l'homme. Aucun autre organe ne présente une telle puissance de régénération : les potentialités de prolifération hépatique sont supérieures à celles des cancers de malignité extrême ou à celles des tissus embryonnaires (**Jean et al., 2015**).

Au terme de sa régénération, le poids du nouveau foie est le même que son poids de départ (il y a « dépendance à l'organisme ») et la régénération anatomique s'accompagne d'une régénération fonctionnelle tout aussi rapide. Cette précieuse faculté peut tirer d'affaire certains malades frappés d'une nécrose massive au cours d'hépatites virales ou toxiques ; c'est elle aussi qui autorise des interventions d'exérèses hépatiques extrêmement étendues (**Jean et al., 2015**).



Matériels et

Méthodes

I. L'objectif :

Notre travail a pour Le but d'évaluer l'hépatotoxicité suite a une exposition aigue au 5-phényl 1,2,4-triazole-3-thiol (Khacinothionyl) et quelques paramètres sériques chez les jeunes rats Wistar.

II. Protocole expérimental :

II.1. Animaux et logements :

Le travail a porté sur des jeunes rats de race « Wistar » d'âge 45jours, d'un poids corporelle de (58 à 75g). Ils sont élevés à l'animalerie au niveau du département de Biologie, Faculté des sciences, Université de Saida.

Les rats sont maintenus dans des conditions favorables d'élevage à une température de 25 à 30°C, d'éclairages artificiels contrôlé et acclimatés aux conditions de l'animalerie. Ils sont élevés dans des cages en plastique transparente tapissés d'une litière constituée de copeaux de bois (figure 13). Les cages ont été nettoyées et la litière changée tous les 2 jours pour assurer un bon état hygiénique des animaux. Ils ont été nourris avec un concentré équilibré et boivent de l'eau de robinet à volonté.

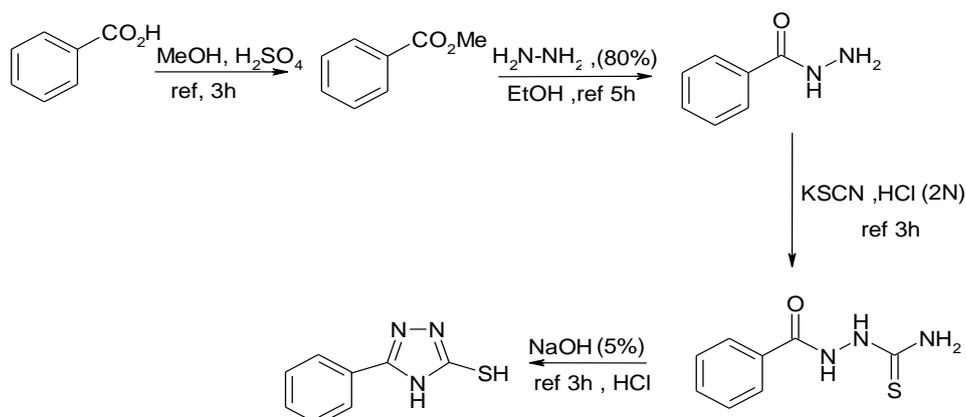


Figure 12 : Conditionnement des rats dans l'animalerie de l'université.

II.2. la synthèse de 5-phényl 1, 2,4-triazole 3-thiol :

Les hétérocycles 1, 2,4-triazoles 3-thiol ont été synthétisés au laboratoire PFE, par l'intermédiaire hydrazide de l'acide benzoïque (Almasirad, 2004 ; Rostom, 2003), L'acide benzoïque est subit une estérification par le méthanol absolu en présence d'une quantité catalytique de l'acide H₂SO₄ concentré. Le benzoate de méthyle (1) obtenu est ensuite traité

avec de l'hydrazine hydratée dans l'éthanol absolu comme solvant ce qui a abouti à la formation de benzohydrazide correspondant.



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 à la formation de 5-phényl 1, 2,4-triazoles 3-thiols (**4**) (Agrawal, 2011).

II.3. Préparation de la solution d'injection :

Le solution d'injection pour notre expérimentation a été préparé par la solubilisation de produit solide le 5-phényl-1,2,4-triazole-3-thiol (Khacinothionyl) dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) sous forme liquide utilisable pour les injections.



Figure 13 : le produit injectable.

II.4. Traitement des rats :

II.4.1. L'exposition aigue :

Pour la réalisation de nos expérience, une répartition des rats décrit par (Kahloula et al., 2015) a été suivi, Les rats ont été groupés en deux lots chacun il s'agit de :

- **Lot 1 témoin** : constitué de 6 rats témoin ont reçu de l'eau physiologique par injection intrapéritonéale.
- **lot 2 expérimental** : constitué de 6 rats traités par une seule injection intrapéritonéale de 5-phényl-1,2,4-triazole-3-thiol (Khacinothionyl) avec une dose unique de 200 mg/kg de poids corporel (Crofton et al., 1989).

III. Sacrifice et prélèvement des échantillons :

Les rats de chaque lot sont sacrifiés par décapitation après 12h de jeûne, après qu'ils sont anesthésiés par une injection intrapéritonéale d'une solution chloral ($C_2H_3Cl_3O_2$), à 10% ensuite le sang et le foie récupérés pour les études biochimique et histologique.

III.1. Prélèvement sanguin :

- ❖ Le sang est immédiatement recueilli dans des tubes polyéthylènes étiquetés contenant l'anticoagulant EDTA et des tubes héparines pour le dosage des paramètres biochimiques.
- ❖ Ces tubes vont subir une centrifugation 3000 tours/min pendant 15 min, puis on récupère le plasma résultant.
- ❖ Les échantillons obtenus ont été stockés au congélateur, à $-20^{\circ}C$ pour le dosage ultérieur des paramètres biochimiques (glucose, transaminases, bilirubine, phosphate alcalin, cholestérol et triglycéride)



Figure 14 : le prélèvement sanguin.

III.2. Prélèvement du foie :

Les animaux sacrifiés ont été pesés puis ouverts ventralement pour le prélèvement de foie a été rincé avec une solution Na Cl, séché, pesé sur une balance de précision de sensibilité puis conservé à 70c° afin de réaliser des coupes histologiques (figure 16).

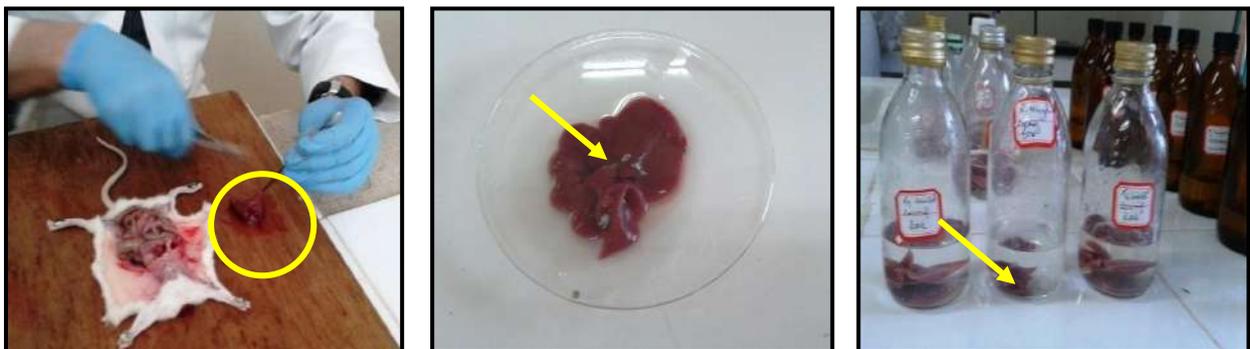


Figure 15 : le prélèvement et la conservation du foie.

IV. Technique de dosage des paramètres biochimiques et exploration de la fonction hépatique :

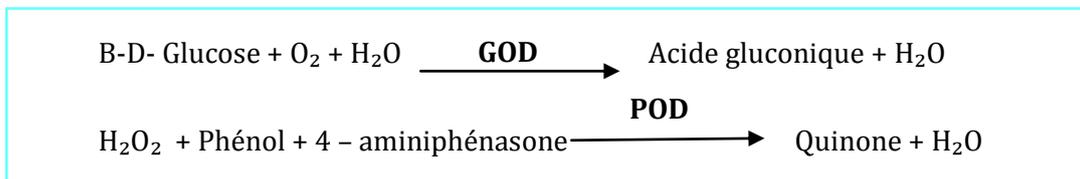
Ces paramètres ont été dosés sur du sérum obtenu après centrifugation du sang entier, au Laboratoire de Biochimie Médicale.

IV.1. Dosage de glucose :

La détermination de la glycémie a été réalisée par la méthode enzymatique au glucose oxydase (selon la fiche technique Spinreact).

- Principe

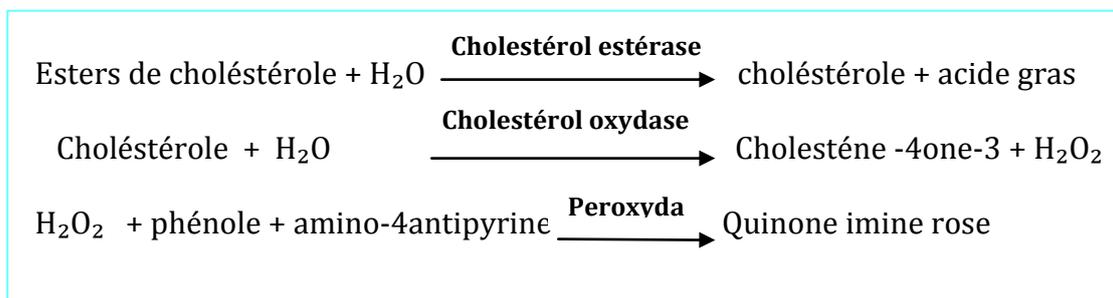
Le glucose est transformé par le glucose oxydase (GOD) en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Ce dernier, en présence de peroxydase (POD), oxyde le chromogène incolore (4-aminophénazone) en un composé coloré en rouge-violet (quinoneimine) (**Kaplan, 1984**) selon les réactions suivantes :



Le lecteur de l'absorbances des échantillons et de l'étalon contre le blanc réactif à 505 nm. La coloration finale est stable au moins 30 minutes.

IV.2. Dosage de cholestérol :(Biomaghreb)

Le cholestérol est mesuré après hydrolyse enzymatique puis oxydation .L'indicateur quinonemeimine est formé a partir du peroxyde d'hydrogène et du 4-amino antimpyrine en présence de phénol et de peroxydase.



La quantité de quinoniemine formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol. Un complexe coloré est estimé par spectrophotomètre à une longueur d'onde $\lambda = 505 \text{ nm}$.

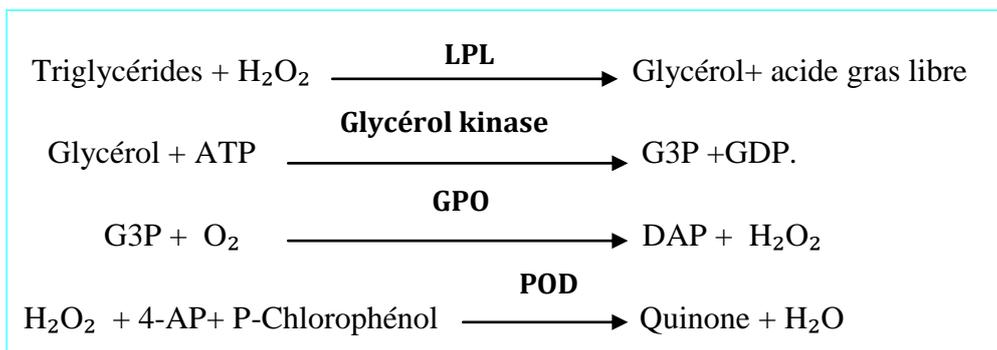
IV.3. Dosage des triglycérides plasmatiques :

Le dosage des triglycérides sériques et tissulaires se fait entièrement par voie enzymatique par l'action d'une lipase selon la méthode colorimétrique enzymatique.

- Principe

L'incubation des triglycérides de l'échantillon avec la lipoprotéinlipase (LPL) libère le glycérol et des acides gras. Le glycérol est converti en glycérol-3-phosphate (G3P) et adénosine diphosphate (ADP) par le glycérol kinase et l'ATP. Le glycérol-3-phosphate (3GP) est en suite convertit par le glycérol phosphate déshydrogénase (GPO) en dihydroxyacétone phosphate (DAP) et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

Dans la réaction finale, le peroxyde d'hydrogène réagit avec 4-aminpphénazone (4-AP) et le p-chlorophénol en présence de peroxydase (POD) pour donner une couleur verte (**Kaplan et al., 1984**).



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans l'échantillon.

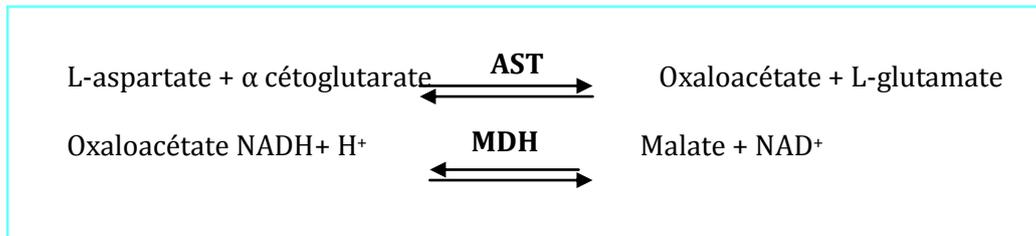
IV.4. Dosage des transaminases (TGO, TGP) : (kit Spinreact)

La détermination des activités enzymatiques des transaminases se fait au niveau des organes (Foie, cœur, rein, muscle) et permet d'apprécier l'atteinte tissulaire et la cytolysse.

Principe :

Les deux principales réactions de transamination sont catalysées par les transaminases glutamo-oxaloacétique (TGO) et glutamo-pyruvique (TGP). L'oxaloacétate de glutamate transaminase (GOT) appelée aussi l'aspartate aminotransférase (ASAT) 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 :



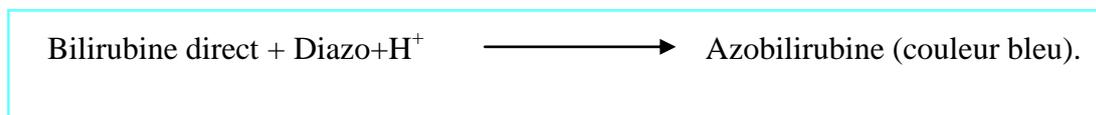
La vitesse d'oxydation du NADH est proportionnelle à l'activité enzymatique des transaminases. Elle est déterminée par mesure de la diminution de l'absorbance à 340 nm.

IV.5. Dosage de bilirubine plasmatique :

La détermination de la bilirubine a été réalisée par la méthode colorimétrique (selon la fiche technique Spinreact).

Principe :

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



L'intensité de la coloration est mesurée à 578 nm, elle est proportionnelle à la concentration de la bilirubine dans l'échantillon (Kaplan et al., 1984).

V. Analyse statistique :

Les résultats expérimentaux sont exprimés en donnant la valeur moyenne arithmétique, accompagnées de l'erreur standard ($m \pm \text{SEM}$). La comparaison des valeurs des paramètres biochimiques plasmatiques ont été effectuées à partir du logiciel Sigma statistique, par le

test d'analyse des variances (ANOVA) de student one way (grâce à l'Excel). Nous avons effectués une seule comparaison : le groupe exposé au Khacinothionyl par rapport au groupe témoin.

- * : Différence significative ($p \leq 0.05$).
- ** : Différence hautement significative ($p \leq 0.01$).
- *** : Différence très hautement significative ($p \leq 0.001$).

Avec p : Seuil de signification.

VI. Technique histologique :

Les coupes histologiques ont été réalisées suivant la technique classique de **Houlot (1984)** :

Des fragments de foie de chaque rat sont retirés du Bouin alcoolique (26ml Formol, 7ml Acide acétique, 45ml Acide picrique 1% dans l'éthanol à 95% et 22ml Eau distillée) et sont coupés à l'aide de couteaux tranchant à fin de réaliser des prélèvements pour l'étude histologique avec une surface de 1 à 2cm² et une épaisseur de 1.5mm.. Les prélèvements réalisés sont mis dans des cassettes spéciales tournées afin de permettre le passage des liquides.

Déshydratation :

Les échantillons sont ensuite déshydratés pendant 19 heures au minimum pour éliminer l'eau des tissus et cette opération nécessite le passage du tissu dans des bains : deux bains de formol, quatre bains d'alcool chirurgical, deux bains d'acétone, deux bains de toluène, deux bains de paraffine avec 1h30 dans chaque bain. La déshydratation peut être accélérée par l'agitation rapide grâce à des automates spéciaux.

Inclusion :

Les tissus sont alors plongés dans des bains de paraffine liquide (sous l'effet de la chaleur).

Les tissus étant maintenu et imbibés de paraffine, viennent alors l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe. Cette opération fait appel à des appareils « dits à inclusion » refermant un réservoir de paraffine maintenue à l'état liquide par un système de chauffage, un petit robinet et une plaque métallique réfrigérée pour obtenir la solidification rapide du bloc de paraffine contenant le tissu.

Coupes et coloration :

Les blocs d'inclusions sont collés sur un porte-échantillon, la surface à coller est ramollie au moyen d'une lame métallique chauffée modérément à la flamme, puis posée sur le porte-objet sur lequel le bloc adhère très bien après une légère pression. Les coupes sériées sont réalisées à l'aide d'un microtome (l'épaisseur est de 4 à 7 microns). Ces coupes sont étalées et fixées sur la lame par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

Pour la coloration, on a utilisé la technique à l'Hématoxyline-Eosine (ou Hématoéine-Eosine) qui nécessite la présence de l'alcool acide (100ml d'alcool éthylique à 70% + 50ml d'acide HCl), eau ammoniacale (100ml d'eau distillée + 2ml d'ammoniaque) et solution d'Eosine (100ml Eosine solution aqueuse à 3%, 125ml alcool éthylique à 95%, 375ml eau distillée et 2 gouttes d'acide acétiques) selon les étapes suivante :

- ❖ Déparaffiner et hydrater les lames à l'eau du robinet puis rincer à l'eau distiller.
- ❖ Immerger dans un bain d'Hématoxyline de Harris (15 minutes) qui colore en bleu violacée les structures basophiles (noyaux).
- ❖ Différencier les coupes dans l'alcool acide (1 à 2 plongées), déposer ensuite les lames dans un bain du robinet et vérifier la différenciation au microscope.
- ❖ Bleuir dans un bain d'eau d'ammoniacale ;
- ❖ Immerger dans un bain d'Eosine (15 secondes à 2 minutes) qui colore les Structures acidophiles (cytoplasme).
- ❖ Enfin déshydrater, éclaircir et monter les lames à Eukitt. Tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau du robinet.

La Figure 16 schématise les différentes étapes du protocole expérimental utilisé

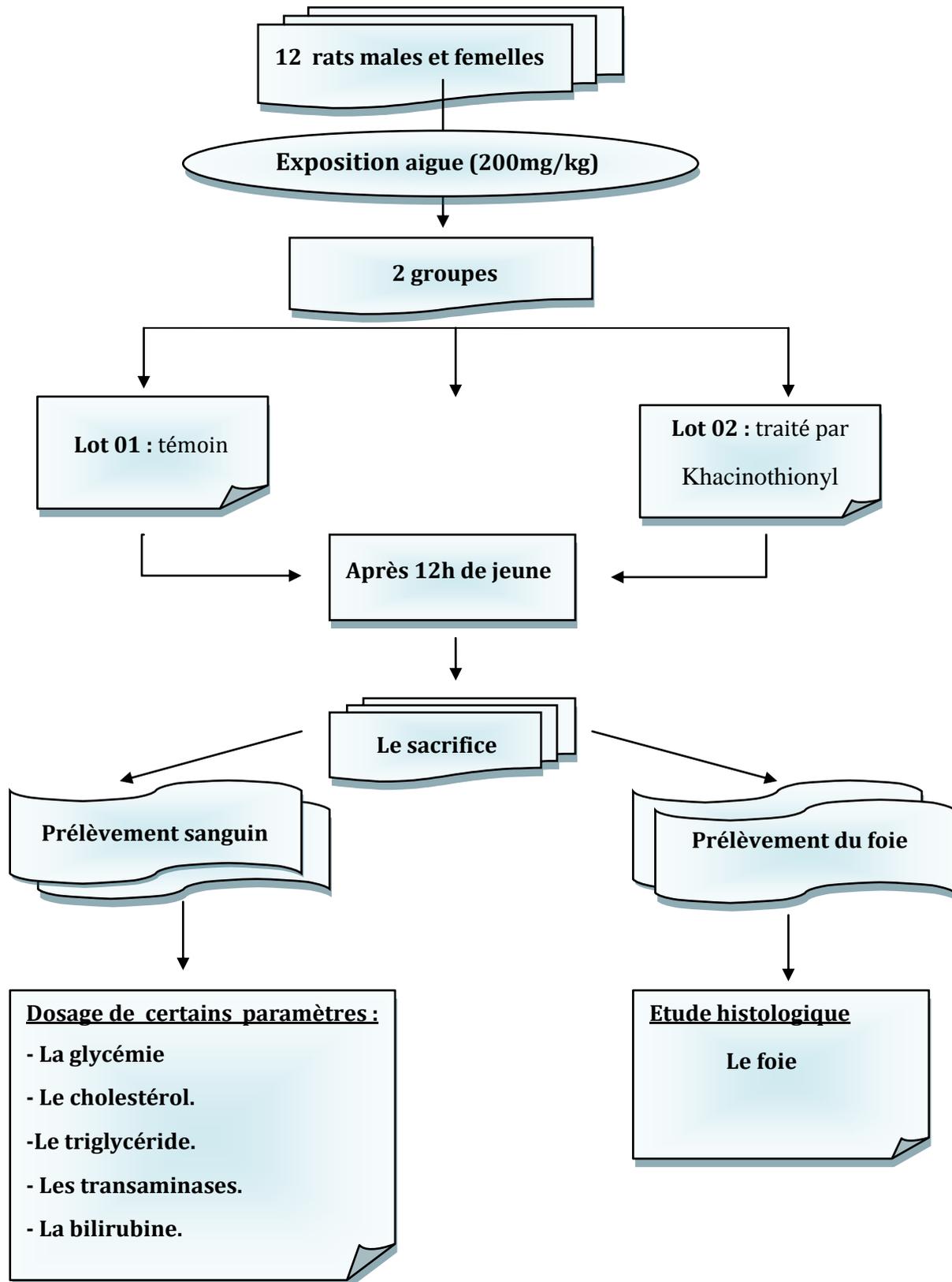


Figure 16 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental



Résultats et

Interprétation

I. Les résultats de l'exposition aigue au Khacinothionyl :

I.1.L'évaluation du poids hépatique :

Les résultats trouvés montrent une diminution significative de la masse du foie chez les rats traités par le Khacinothionyl comparés aux rats témoins.

Tableau 02 : Evaluation de poids de foie.

Groupes	Témoins	(5-PTT)
Le foie (g)	4,89±0,248*	4,068±0,207*

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type. La comparaison des moyennes entre les rats témoins et les rats expérimentaux est effectuée par le test "t" de Student après analyse de variance (* p < 0.05 différence significative).

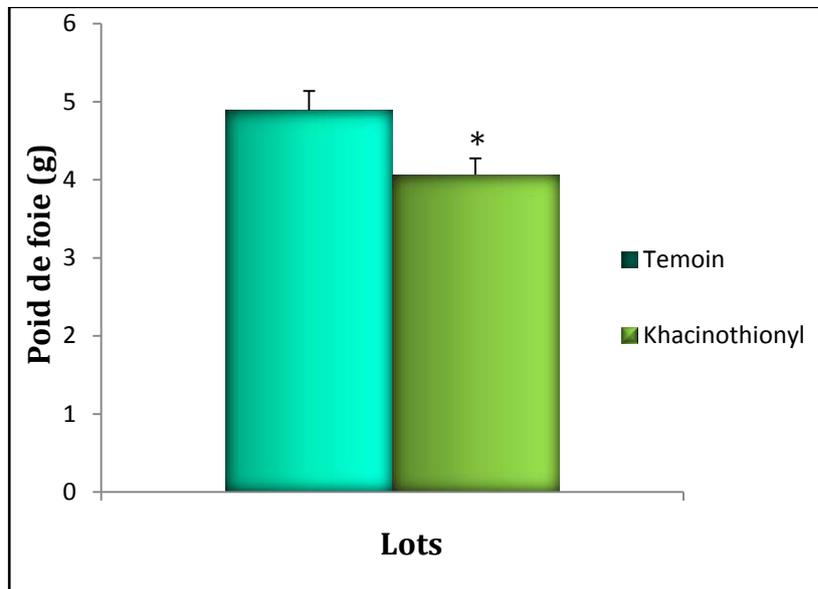


Figure 17 : L'évaluation de poids du foie chez les rats exposés au Khacinothionyl et les rats témoins

I.2. les résultats des paramètres biochimiques :

I.2.1. Dosage de glycémie :

D'après les résultats des paramètres biochimiques obtenus, une augmentation significative de la concentration plasmatique en glucose est constatée chez les sujets recevant le Khacinothionyl comparés aux valeurs des sujets témoins.

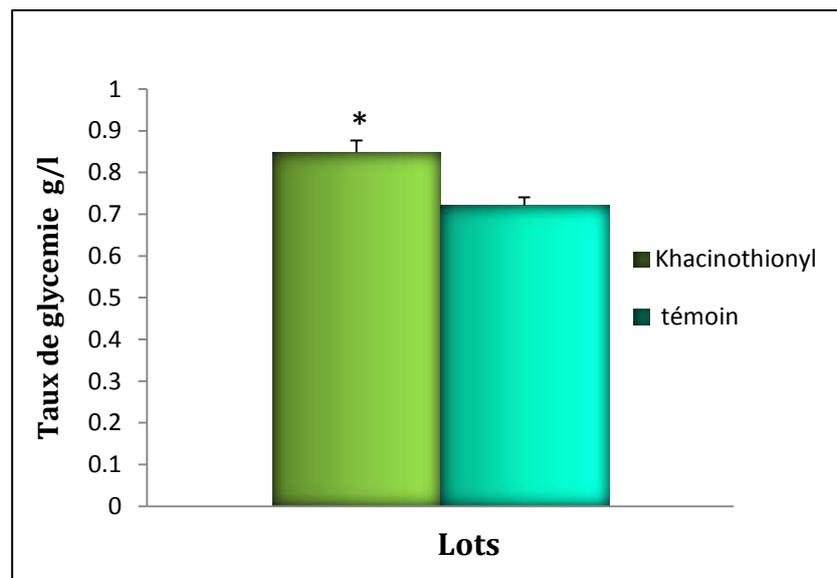


Figure 18 : Comparaison de la glycémie (g/l) entre les rats témoins et les rats intoxiqués par Khacinothionyl. Les valeurs sont exprimées au moyenne \pm SEM (* : $p < 0,05$).

I.2.2. Dosage des paramètres lipidiques :

Les données relatif au dosage de cholestérol démontrent qu'il ya une diminution significative ($p < 0.001$) de la teneur plasmatique en cholestérol totale chez les rats exposés comparés aux rats témoins.

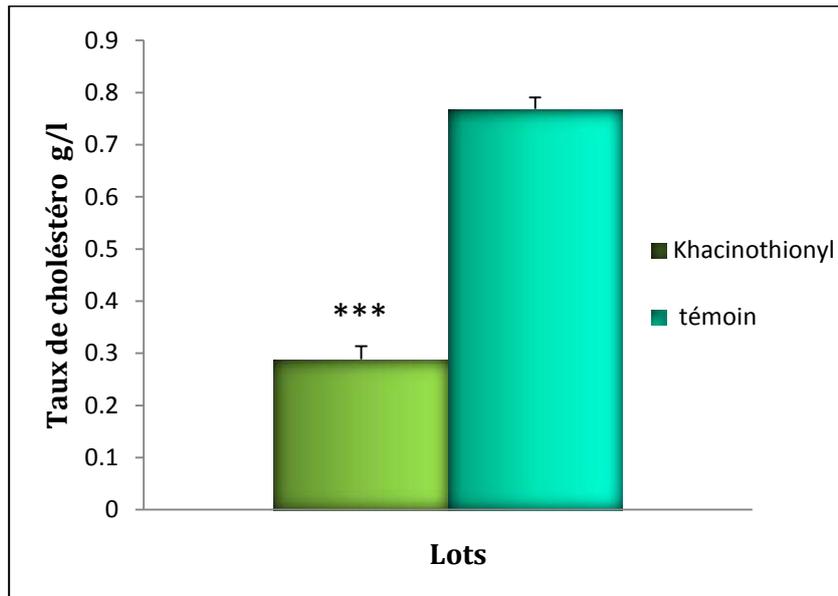


Figure 19 : Comparaison de cholestérol totale (g/l) entre les rats témoins et les rats intoxiqués par le Khacinothionyl. Les valeurs sont exprimées au moyenne \pm SEM (***) : $p < 0.001$).

De même, les valeurs statistiques démontrent une baisse significative ($p < 0.001$) de la teneur plasmatique en triglycérides chez les animaux traités vis-à-vis aux animaux témoins.

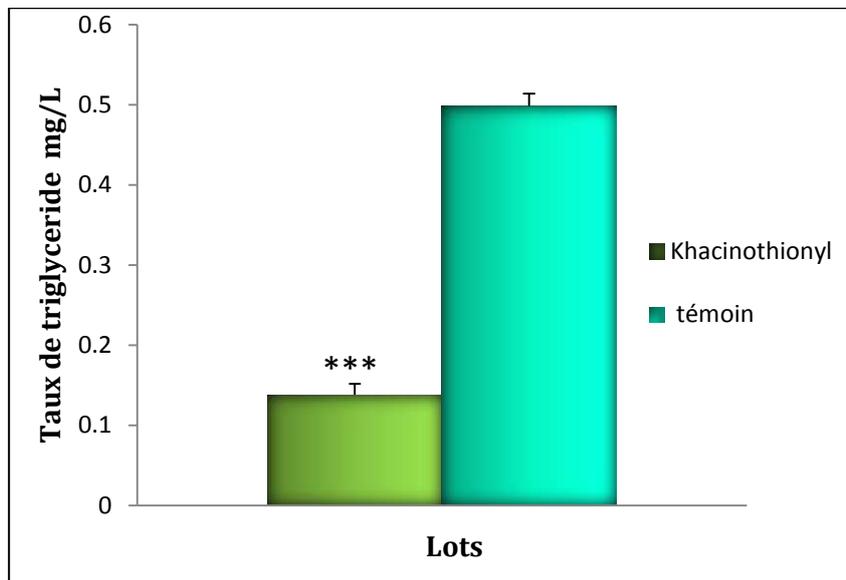


Figure 20 : Comparaison de triglycéride (g/l) entre les rats témoins et les rats intoxiqués par le Khacinothionyl. Les valeurs sont exprimées au moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$).

I.2.3. Dosages des transaminases :

Les enzymes transaminases sont considérées comme indicateurs de dommage des tissus, Chez les rats traités par le Khaciniothionyl à la dose 20mg/kg, les modifications dans les tissus hépatiques peuvent être expliquées par une diminution significative ($p < 0.001$) de la teneur plasmatique en transaminases (TGP, TGO) par rapport aux valeurs des rats témoins. Cette diminution concerne aussi bien pour les teneurs plasmatiques en bilirubine.

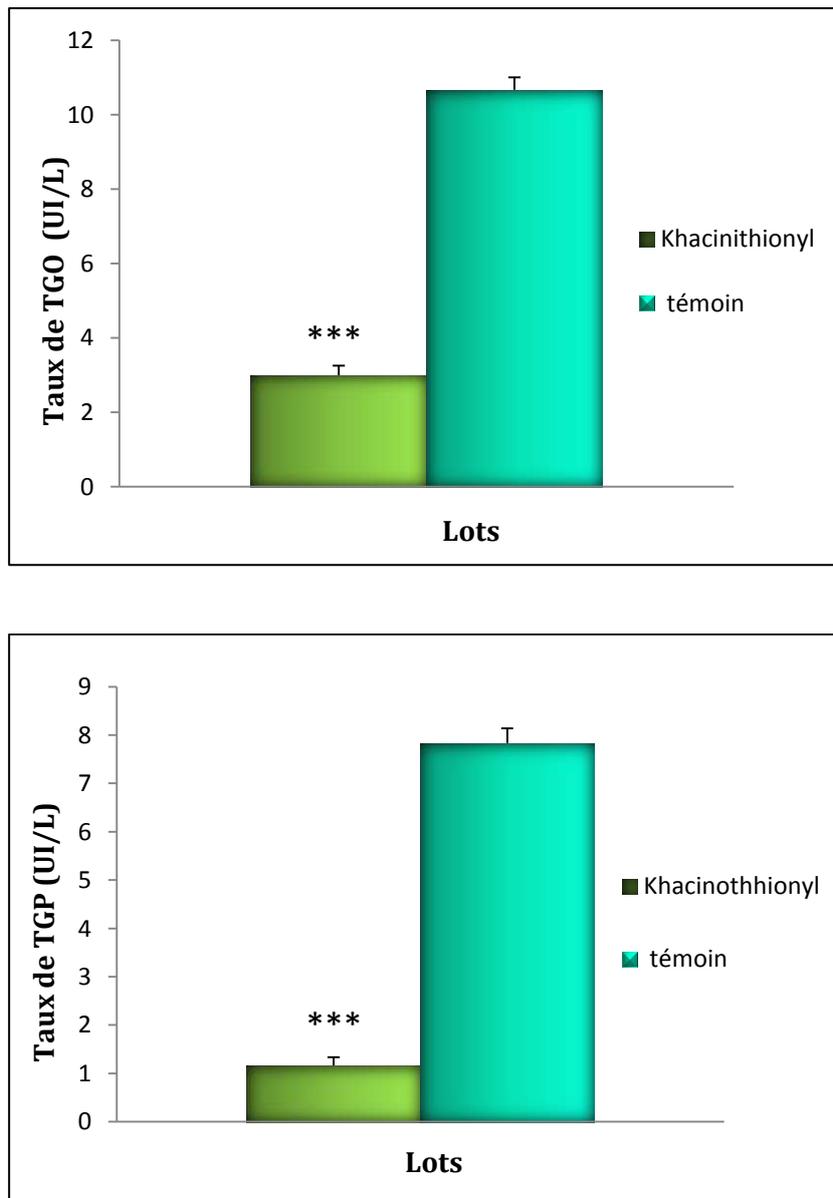


Figure 21 : Comparaison de taux des transaminases (UI/L) entre les rats témoins et les rats intoxiqués par le Khaciniothionyl. Les valeurs sont exprimées au moyenne $\pm S$ (***) : $p < 0.001$).

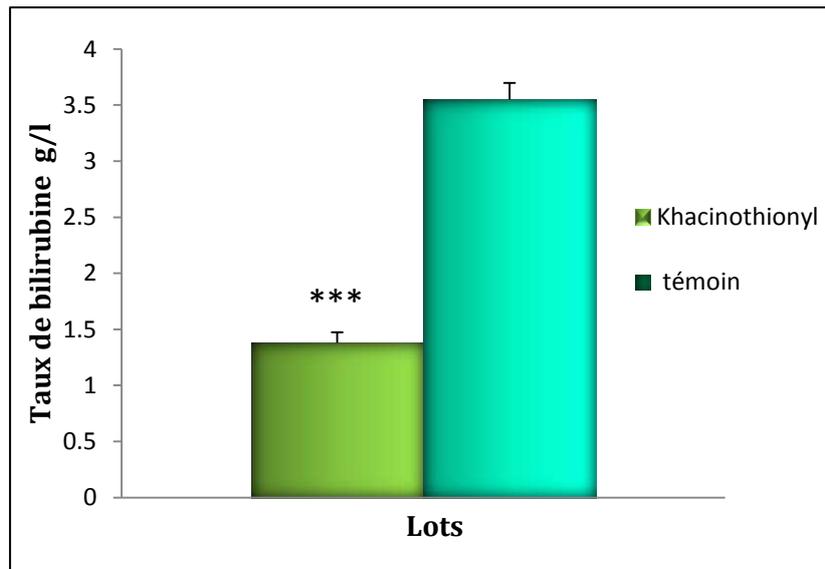
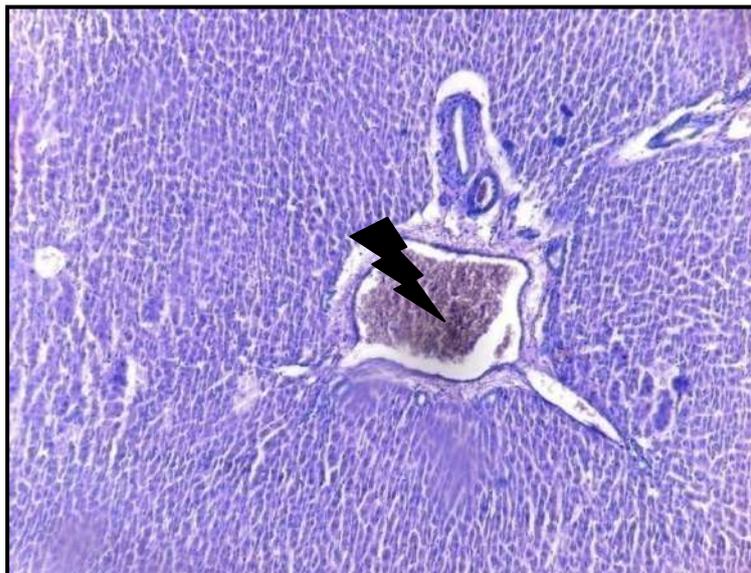
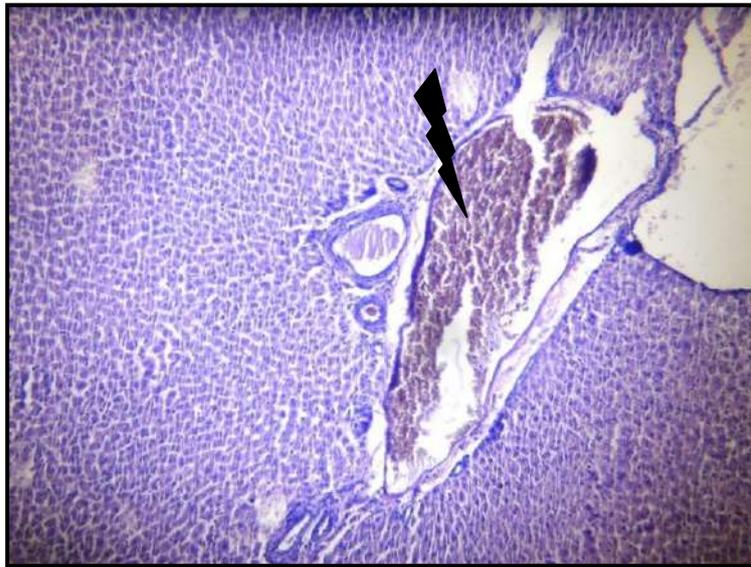


Figure 22 : Comparaison de bilirubine (mg/l) entre les rats témoins et les rats intoxiqués par le Khacinothionyl. Les valeurs sont exprimées au moyenne \pm SEM (***) : $p < 0.001$).

I.3. Résultats de l'analyse histologique :

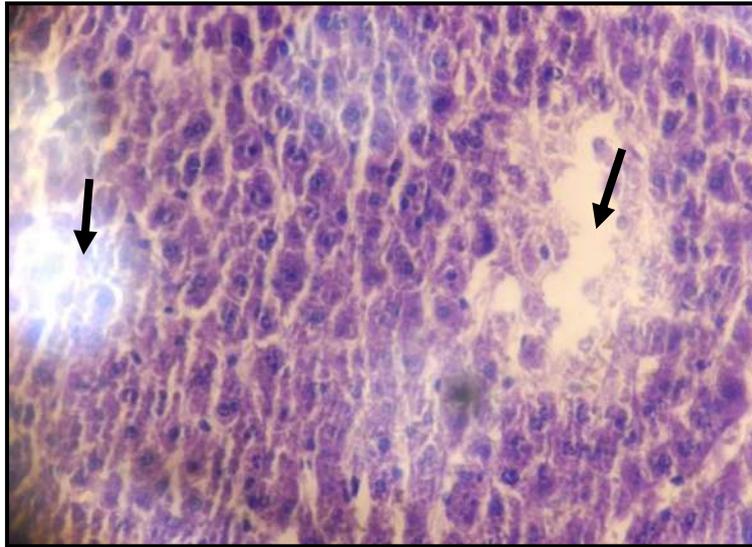
L'examen histologique est conçu dans le but de compléter nos résultats biochimiques précédents et de voir si l'administration de Khacinothionyl s'accompagne ou non d'une altération de l'architecture tissulaire, nous avons réalisé des coupes histologiques au niveau du foie, chez les rats témoins et les rats traités.

L'observation des coupes histologiques du tissu hépatique des rats exposés au Khacinothionyl à 200 mg/kg révèle après coloration à l'hématoxyline-Eosine, des changements architecturaux et une lyse hépatocytaire caractérisés par une congestion modérée des veines centrolobulaires (figure 23) associant des territoires de peace meal nécrosis (figure 24) ce qui atteste la toxicité du produit Khacinothionyl .Comparativement aux rats témoins, les échantillons de foie présentent un parenchyme hépatique normal contenant une veine centrolobulaire bien visible et un aspect histopatplogique subnormal sans signes inflammatoires, dystrophiques ou tumoraux (figure 26).



Gr X 40

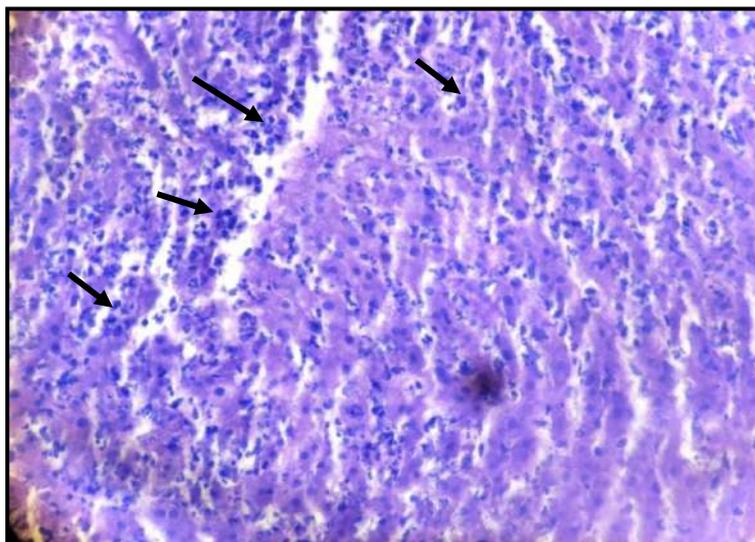
Figure 23 : Coupe histologique du tissu hépatique des rats traités avec la dose (200mg/kg) montrant la congestion des vaisseaux Centro-lobulaire. Coloration éosine hématoxyline.



Gr X 40

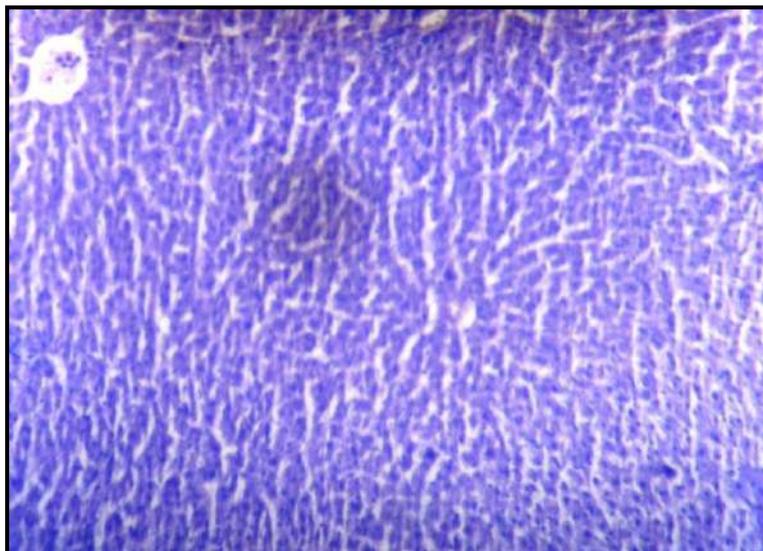
Figure 24 : Coupe histologique du tissu hépatique des rats traités avec la dose (200mg/kg) montrant des territoires nécrosés. Coloration éosine hématoxyline.

L'examen histologique révèle aussi dans plusieurs coupes et dans plusieurs secteurs du tissu hépatique des infiltrats inflammatoires diffus modérés, à polynucléaires (figure 25), observés sur les coupes des rats traités avec la dose 200 mg/kg dans les conditions de toxicité aigue comparativement aux témoins. Ces altérations graves de la structure affectent la fonction hépatique et peuvent contribuer à un dysfonctionnement de cet organe.



Gr X 40

Figure 25 : Coupe histologique du tissu hépatique des rats traités avec la dose (200mg/kg) montrant des infiltrats inflammatoires. Coloration éosine hématoxyline.



Gr X 40

Figure 26 : Histologie du foie chez les rats témoins montrant une architecture normale.
Coloration éosine hématoxyline.



Discussion

Le triazole et ses dérivés appartiennent à une classe de composés particulièrement actifs possédant un large spectre d'activités, ils sont utilisés dans l'agriculture et la médecine vétérinaire et humaine comme antifongiques (**Cabras et Angioni, 2000 ; Haith et Rossi, 2003**) et constituent des synthèses très intéressantes dans le domaine de la chimie des matériaux (**Genin et al, 2000**). Mais avec l'utilisation massive des fongicides sont apparus des signes de toxicité et des effets néfastes pour l'environnement et pour l'Homme (**Eriksson et al. 1990**). Il demeure important de rappeler que les triazoles sont des produits toxiques et qu'ils doivent être utilisés de façon rationnelle et sécuritaire.

Notre étude a été conçue pour identifier systématiquement les effets d'une exposition aiguë de 5-phényl-1,2,4-triazole-3-thiol (Khacinothionyl) chez les jeunes rats Wistar afin d'évaluer la toxicité hépatique. Le travail est réalisé sur des jeunes rats wistar qui ont reçu une dose unique de 200mg/Kg de Khacinothionyl par voie intrapériténeale.

Deux aspects sont abordés dans notre expérimentation : l'approche biochimique comme paramètre d'exploration de la fonction hépatique par les dosages de certains paramètres sériques à savoir la glycémie, cholestérol totale, triglycérides et les transaminases (ASAT et ALAT), et l'approche histologique afin d'évaluer l'intégrité et l'architecture du tissu hépatique suite à cette exposition.

Les résultats de l'exposition aiguë obtenus montrent clairement que l'administration de 5-phényl-1, 2,4-triazole-3-thiol chez les animaux expérimentaux induit une augmentation significative des teneurs sériques en glucose comparées aux animaux témoins. Il a été clairement prouvé qu'une glycémie élevée est la conséquence d'un déficit de sécrétion d'insuline ou d'un mauvais stockage du glucose par le foie. Ces résultats sont en accord avec ceux de (**Gillies, 2008 ; Vander et al., 2009**) qui montrent que le triazole entraîne un dysfonctionnement du métabolisme énergétique par l'altération de la glycogénolyse hépatique qui a pour conséquence l'augmentation de la glycémie. Basé sur des études antérieures concernant les triazoles, le traitement propiconazole à court terme à une dose de 2500 ppm modifie le métabolisme des glucides avec les niveaux d'un certain nombre d'oligosaccharides réduits, le traitement par le propiconazole a augmenté la glycolyse, une augmentation du flux de glucose et l'augmentation de la concentration d'une série de produits intermédiaires de la glycolyse et ses doses-réponses: glucose-6-phosphate, le fructose-1,6-bisphosphate et 3-phosphoglycérate (**Nesnow et al., 2011**). Par ailleurs, il a été constaté dans des travaux

antérieurs que l'exposition au propiconazole diminue significativement l'expression de l'insuline comme premier facteur de croissance (IGF-1) (**Lu et al., 2003; Radu et al., 2003; Puc et al., 2005**) ce qui confirme nos résultats.

De plus, ont été rapporté dans des études métaboliques que les paramètres biochimiques varient lors d'un stress, dans les tests toxicologiques, ces variations sont liées à la perturbation de l'axe hypothalamohypophyso-surrénalien traduisant une hyperglycémie liée à l'activation du système orthosympathique (**Manser, 1992**). Des résultats similaires ont été enregistrés à autres travaux ont confirmées que l'exposition au propiconazole à 1250 ppm (157.6 mg/kg) engendre un effet stressant qui se traduit par une hyperglycémie sous l'action des hormones de stress a savoir, la corticotropin-Releasing-Factor, la corticotropine et la cortisone au niveau de l'hypothalamus, l'hypophyse et la glande surrénale respectivement, activant ainsi les enzymes du métabolisme glucidique (**Rodriguez et al., 1996 ; Nesnow et al., 2011**).

Les perturbations biochimiques induites par le Khacinothionyl touchent aussi les concentrations en cholestérol et triglycérides. On observe une diminution significative de cholestérol total chez les sujets exposés comparant aux sujets témoins. Cette information peut conduire à suspecter des troubles hépatiques plus ou moins importants. En effet, la cholestérolémie et la triglycéridémie, régulées par le foie, sont modifiées en cas de maladies hépatiques (**Anonyme, 1985**). De plus, l'hypocholestérolémie peut être due à une réduction de la synthèse du cholestérol ou une augmentation de son élimination chez les rats exposés sous l'effet de triazole, ces résultats s'accordent avec d'autres études qui ont montrées que l'expositions à triadimefon à haute dose (4 jours) a réduit le cholestérol sérique et de lipoprotéines de haute densité (HDL) (**Allen et al., 2006**) De même, le triadimefon produit de plus grands changements dans la biosynthèse du cholestérol, des gènes du métabolisme de l'acide rétinoïque et dans les voies de signalisation sélectionnés, l'analyses génomiques révéla des différences importantes dans leurs profils d'expression génique (**Ward et al., 2006**) en effet La biosynthèse du cholestérol nécessitant des facteurs tels que l'acétyl-CoA et du pyruvate, ces donnée conforme avec les résultats trouvé par (**Ward et al., 2006 ; Nesnow et al., 2009**) a indiquées que le propiconazole altérant le métabolisme de pyruvate.

Additionnellement, l'hypocholestérolémie induite par le Khacinothionyl est probablement due à son action dans la régulation du métabolisme hépatique par la modification de l'activité des enzymes (CYP51) qui jouent un rôle dans le métabolisme des lipides et des lipoprotéines.

Des études ont rapportés que les effets sur les taux de cholestérol sérique, susceptibles d'être liés à la propriété caractéristique de conazoles, connue comme fongicide, pour inhiber le stérol 14 α -déméthylase, une enzyme clé qui fonctionne dans la biosynthèse du cholestérol et de la vitamine D chez les mammifères (**Zarn et al., 2003**). L'inhibition se produit en se liant au fer de l'hème de l'enzyme (**Lamb et al., 2001**). D'autres inhibiteurs de la lanostérol 14 α -déméthylase ont été montré à perturber le cycle cellulaire mitotique et conduire à la polyploïdie (**Martinez et al., 1999; Fernandez et al., 2004**).

En revanche, des résultats de transcription génomique confirmant nos résultats, ont rapportés que le propiconazole à forte dose, modifié les voies de la biosynthèse du cholestérol et l'acide biliaire (**Nesnow et al., 2009; Ward et al., 2006**). Propiconazole active les récepteurs nucléaires PXR et la CAR, qu'ils ont aussi un rôles endobiotiques importants dans le métabolisme énergétique en affectant le métabolisme des acides gras, des lipides à travers la régulation génique (**Wada et al., 2009**)

Toutefois, les analyses sériques ont montrés au cours de l'exposition au Khacinotionyl une diminution des teneurs sérique en triglycérides, chez les animaux traités comparant aux animaux témoins. Ce résultat laisse suggérer une réduction ou altération de leur synthèse par le foie. Nos résultats vont dans la même sens avec ceux de (**Wada et al., 2009**) montrent que Le traitement propiconazole chez les rats, affectant le métabolisme des acides gras et des lipides. Dans la même série expérimentale, certain auteurs ont rapporté que le propiconazole à une dose de 2500 ppm pendant 4 jours affect le métabolisme du glycogène cellulaire, modifié la lipolyse et la carnitine estérification qui joue à son tour un rôle essentiel dans la dégradation, combustion et catabolisme des lipides (**Vander et al., 2009**).

Il est important de souligner que Les transaminases sont des enzymes ayant une activité métabolique importante à l'intérieur des cellules. Ils sont également des marqueurs importants du fonctionnement hépatique et sont évaluées afin de déterminer les éventuelles perturbations (**Yokozawa et al., 2006**).

Dans notre investigation, le traitement des rats pour la même dose de Khacinotionyl provoque des modifications dans les tissus hépatiques qui peuvent être expliquées par une diminution significative de l'activité enzymatique des ASAT et ALAT comparé à celles des témoins. La diminution concerne aussi bien pour les teneurs plasmatiques en bilirubine. Cette réduction de l'activité enzymatique qui est probablement la conséquence de l'altération de

métabolisme des acides aminés. Des résultats similaires ont été enregistrés par (**vander et al., 2009**) montre que le propiconazole pour la même dose modifie en réponse au traitement Le cycle de l'acide tricarboxylique et les intermédiaires par conséquence la limitation des réactions des transaminations.

Les analyses des paramètres biochimiques constituent un outil appréciable pour retrouver et suivre les altérations possibles du métabolisme des lipides, des protéines ou des carbohydrates, qui peuvent être associées à des lésions au niveau des organes résultant de l'effet du différent polluant. Le foie est l'organe cible majeure pour les produits chimiques et les médicaments. L'hépatotoxicité représente donc un critère important pour évaluer l'effet d'un xénobiotique particulier (**Al-Awthan et al., 2012**). En plus, le foie est un organe essentiel dans le métabolisme énergétique. Il synthétise le cholestérol et les triglycérides et il produit et recycle les lipoprotéines (**Postic et Girard, 2008**).

Les changements métaboliques rapportées dans l'étude biochimique sont cohérentes avec l'étude histopathologique du foie des rats témoins et exposés. Dans notre étude, on a noté des changements histologiques du foie des rats recevant le Khacinothionyl caractérisés par une congestion de la veine centrolobulaire ainsi qu'un phénomène de nécrose cellulaire comparativement aux témoins. L'installation de changement architectural du foie pourrait être due essentiellement à l'effet toxique du Khacinothionyl qui touche la structure des hépatocytes. Cela est en accord avec d'autres travaux, qui ont montré des changements histopathologiques des hépatocytes après exposition au cyproconazole à dose élevée (450 ppm) pendant 2 jours de traitement avec une augmentation de l'incidence et la gravité de la nécrose de cellules chez les rats (**Richard et al., 2007**).

Par ailleurs, l'examen histologique révèle aussi dans plusieurs coupes et dans plusieurs secteurs du tissu hépatique des infiltrats inflammatoires diffus modérés, à polynucléaires observés sur les coupes des rats traités avec la dose 200 mg/kg dans les conditions de toxicité aiguë comparativement aux témoins, ceci due à l'activation des cellules immunitaires en rependent au traitement, aussi les exigences d'énergie accrues nécessaire pour métaboliser et éliminer le polluant ce qui confirme l'effets hyperglycémiant signalé dans l'étude biochimique. En effet le cholestérol constitue à son tour une composante majeure de membranes et des altérations dans les niveaux intracellulaires du cholestérol pourraient avoir un impact intégrité membrane. D'autres travaux indiquent que le triadiméfon réduit le taux de cholestérol sérique chez les rats, après 4 jours de traitement. Le taux de cholestérol réduit en présence de

l'expression normale ou accrue de gènes de biosynthèse de cholestérol peuvent conduire à l'acide arachidonique (AA), un intermédiaire clé qui intervient dans l'inflammation, le métabolisme est modifié, la croissance cellulaire et la division altérés (**Luo et al., 1998 ; Wang et al., 2004**). En effet La croissance cellulaire et la division sont généralement plus dépendante de cholestérol (**Brown et Goldstein, 1974; Chen et al., 1975**) la surproduction de produits intermédiaires de cholestérol pourrait exercer alors un effet cytotoxiques, mutagènes (**Guardiola et al., 1996**).

Les anomalies tissulaires observées pourraient être dues à l'hépto-toxicité du triazole (Khacinothionyl) qui mène à l'altération de la perméabilité de la membrane plasmatique donc la fuite des enzymes du tissu vers le plasma ou à l'apparition de la nécrose du foie. Des études ultérieures ont montrés que le propiconazole modifié un ensemble des voies qui sont activées par une série de ligands du récepteur, le calcium, les cytokines, l'EGF, le PDGF, FGF, l'œstrogène, vasculaire facteur de croissance endothéliale et TGF- β . Ce profil de transcription définissent les modifications cellulaires associés à l'inflammation, la transformation cellulaire, le cycle cellulaire arrêté et ensuite des signaux apoptotiques (**Tian et Phillips, 2002**) ce qui est corrélé à la réduction du poids hépatique.



*Conclusion et
Perspective*

Les intoxications aiguës par le triazole 5-phenyl-1, 2,4-triazole-3-thiol (Khacinothionyl) est considérée comme un critère d'effet toxicologique pertinent dans l'évaluation des risques pour la santé humains. La présente étude a montré que l'exposition aiguë au Khacinothionyl entraînant un effet nocif observé, en illustrant ainsi des changements pathologiques dans le tissu hépatique.

Les résultats démontre que l'exposition à base phenyl-1, 2,4-triazole-3-thiol (Khacinothionyl) chez les rats, associées à l'apparition des troubles métaboliques se manifestent par un effet hyperglycémiant en altérant le glycogénolyse hépatique. Nous avons observés une augmentation significative de la concentration plasmatique en glucose chez les sujets exposés vis-à-vis aux sujets témoins.

D'autre part, l'administration de Khacinothionyl chez les rats pour la même dose, a permis d'enregistrer une réduction significative dans les teneurs sériques en cholestérol totale et triglycéride, ceci due à des troubles hépatique sous l'effet délétère de Khacinothionyl.

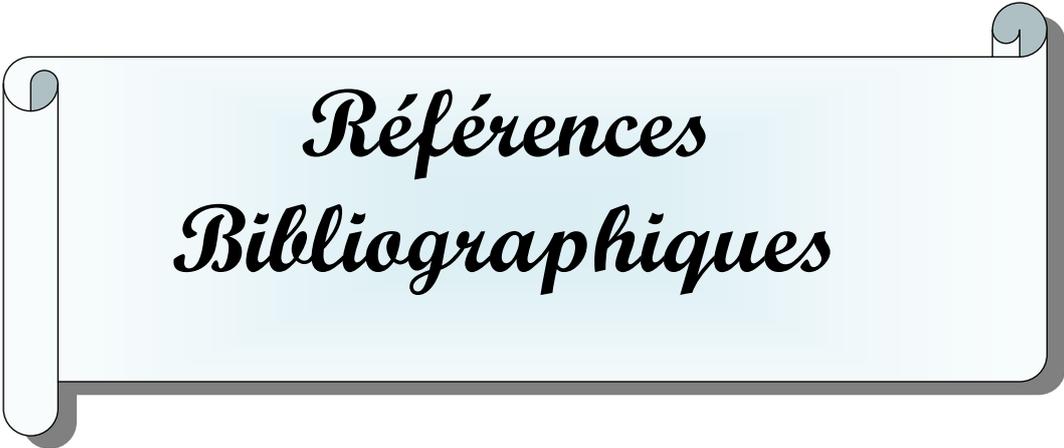
Dans la même série expérimentale, le traitement des rats par le Khacinothionyl a réduit l'activité des transaminases, on enregistre une baisse significative de leurs concentrations plasmatiques chez les rats exposés vis-à-vis aux rats témoins. Parallèlement une diminution significative de la teneur plasmatique en bilirubine a été rapportée au niveau de plasma.

Additionnement à la détérioration des paramètres biochimiques, une diminution de poids hépatique a été souligné, dans notre étude, ceci montre que l'exposition aiguë au Khacinothionyl est hépatotoxique, affectant le bon fonctionnement de foie ainsi provoque une altération de l'architecture tissulaire à différents niveaux signalées dans les testes histologiques.

Nous avons encore besoin de temps pour explorer différentes pistes de recherche qui nous permettront de mieux évaluer et expliquer le grand pouvoir toxique de ce produit. Notre travail ouvre un certain nombre de perspectives et appellent un prolongement de certaines études afin de pouvoir approfondir la compréhension des mécanismes impliqués dans les différents effets observés. On continuité logique avec les résultats rapportées, notre étude pourrait être complété par certaines perspectives :

☞ Il serait judicieux de procéder à des expérimentations ultérieures en étudiant les mécanismes cellulaire et moléculaire par des études plus approfondies (étude de génotoxicité) autant sur la compréhension des mécanismes d'entrée de triazole Khacinothionyl dans la cellule que sur ceux impliqués dans la régulation de l'expression génique. Il serait ainsi intéressant de développer des études mécanistiques plus fondamentales afin de mieux comprendre l'interaction de Khacinothionyl à l'échelle cellulaire sur les différents acteurs impliqués dans ce mécanisme d'entrée, dans la régulation d'expression génique et dans l'induction de l'hépatotoxicité permettra de savoir l'atteinte de l'expression des gènes suite à l'exposition aux Khacinothionyl et de conclure ainsi sur la possibilité d'un lien direct avec le développement de pathologies comme le cancer.

☞ De tester de ce produit sur le système reproductif (testicules) et de savoir l'action de ces molécules sur la vitesse, la concentration, la mobilité et au niveau de la morphologie des spermatozoïdes, afin de déterminer un lien avec la stérilité.



*Références
Bibliographiques*

A

- 1- **Abboud. J., Foces-Foces. C., Natorio. R., Trifonov. R. E., Volovodenko. A.P., Ostrovskii. V. A., Alkorta. I., Elguero. J. B.** (2001), Basicity of *N*-H- and *N*-methyl-1,2,3-triazoles in the gas phase, in solution and in solid State, an Experimental and Theoretical study, *Eur.j.org.chem* : 3013-3024.
- 2- **Abdul Rauf., Nida. N. F.** (2012), Triazole, Synthèse par micro-ondes induit des hétérocycles aromatiques ; ISBN 978-94-007-1484-7 : 57-64.
- 3- **Agrawal. R., Pancholi. S.S.** (2011), *Der Pharma Chemica* ; **3** : 32-40.
- 4- **Alan. S., James. L.** (2006). *Microphotographie du foie, histologie humaine* ; 3eme édition Elsevier ISBN 2-84299-751-4 : 1768-2304.
- 5- **Allen, J. W., Wolf, D. C., George, M. H., Hester, S. D., Sun, G., Thai, S. F., Delker, D. A., Moore, T., Jones, C., Nelson, G., Roop, B. C., Leavitt, S., Winkfield, E., Ward, W. O., and Nesnow, S.** (2006), Toxicity profiles in mice treated with hepatotumorigenic and nonhepatotumorigenic triazole conazole fungicides: propiconazole, triadimefon, and myclobutanil. *Toxicol. Pathol* ; **34** : 853–862.
- 6- **Almasirad. A., Tabatabai. SA., Faizi. M., Kebriaeezadeh. A., Mehrabi. M., Dalvandi. A., Shafiee.** (2004), *Bioorg Med Chem Lett* ; **14** : 6057-6059. doi: 10.1016 / j.bmcl.09.072
- 7- **Al-Soud.Y.A., Al-Masoudi.N.A., Farwanah.A.** (2003), *Bioorg.Med. Chem* ; **11** : 1701-1708.
- 8- **Amblard. F., J.H.Cho., R.F.Schinazi.** (2009), *Chem.Rev* ; **109** : 4207-4220.
- 9- **Ambre. K., Goetz., Hongzu. R., Judith. E., Schmid. T., Blystone. R., Inthirany. T., Deborah. S., Meilleur , Harriette P. Nichols , Lillian F. Strader , Douglas. C., Loup , Michael G. Narotsky ., John C. Rockett et David J. Dix.** (2006) , Département de l'environnement et de toxicologie moléculaire, North Carolina State University, Raleigh 27695.
- 10- **Anonyme.** (1985), Lowering blood cholesterol to prevent heart disease. *Rev. Nutr* ; **43**: 283-285.
- 11- **A.R.L.A.S (Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire de Santé Canada).** (2012), Fongicide technique Tétraconazole, Section des publications Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire de Santé Canada ; ISSN 1925-0894 : 13-15.
- 12- **Arnaud. L., Beligné. D., Baron. E.** (2009), *pathologie humaine du service d'anatomie pathologique, anatomie et histologie normale du foie* ; ISBN 10 2841368882 ISBN 13 978 28 41368884.

13- Aromi. G., Barrios. L. A., O.Roubeau., Gamez. P. (2011), Coordination, Chem. Reviews ; **255** : 485-546.

14 - Awthan. YS., Al-Douis. MA., El-Sokkary. GH., Aqlan EM. (2012), Dimethoate induced oxidative stress and morphological changes in the liver of Guinea pig and the protective effect of vitamin C and E. Asian J. Biol. Sci ; **5** : 9-19.

B

15- Bachman. GB., Heisey.L.V . (1946), J.Am. Chem.soc ; **68**, 2496.

16- Bass et al. (1984), Brevet US. N ° 4767777; **et Parsons et al**, brevet US. N ° 4772613.

17- Bentiss. F., Bouanis. M., Mernari. B., Traisnel. M., Vezin. H., Lagrenée. M. (2006), Appl. Surf. Sci., accepted.

18- Bentiss. F., Lagrenée. M., Traisnel. M., Mernari. B., Elattari. H. J. (1999), Hétérocyclic, Chem ; **36** : 149.

19- Binder. WH., Sachsenhofer. R. (2008), Macromol, Rapid Commun ; **29** : 952-981.

20- Bladin. J. (1885), Ber ; **18** : 1544.

21- Bouchet. A., Guilleret. J. (1983), Anatomie topographique descriptive et fonctionnelle ; SIMEP, éd. Lyon.

22- Bourne. Y., Kolb. HC., Radic. Z., Sharpless. KB., Taylor. P., Marchot. P. (2004), inhibiteur captures acétylcholinestérase dans une conformation unique, Proc Natl Acad Sei USA ; **101**: 1449-1454.

23- Brown, M. S., and Goldstein, J. L. (1974). Suppression of 3-hydroxy-3- methylglutaryl coenzyme A reductase activity and inhibition of growth of human fibroblasts by 7 ketocholesterol. *J Biol Chem* **249**, 7306–14.

24- Burghate. MK., Burghate. SK., Berad. BN. (2008), J. Indian Chem. Soc ; **85**: 561-565

25- Butzen. S., Beudot. F., McInnes. B. (2005), rouille asiatique du soja: fongicides. Aperçu des cultures vol ; **15** : 2

C

26- Cabras. P., Angioni. A. (2000), Les résidus de pesticides dans les raisins, le vin et les produits de traitement, J Agric Food Chem; **48**: 967 – 73.

- 27- Calderone.V., Curr.** (2002), *Med .Chem* ; **9** : 1385-1395.
- 28- Chen, H. W., Heiniger, H. J., and Kandutsch, A. A.** (1975). Relationship between sterol synthesis and DNA synthesis in phytohemagglutinin-stimulated mouse lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* ; **72** : 1950–4.
- 29- Capkin. E., Altinko. I., Karahan. S.** (2006), Water quality and fish size affect toxicity of endosulfan, an organochlorine pesticide to rainbow trout , *Chemosphere vol* ; **64** : 1793-1800.
- 30- Christian. R.** (2011), rôle et fonction normale de foie ; F-94800 –France : 12-14.
- 31- Cornely. OA., Maertens. J., Winston. D., Perfect. J., Helfgott. D., Ullmann. A., Holowiecki. J., Stockelberg. D., Goh. Y., Petrini. M., Walsh. T., Gogate. J., Hardalo. C., Angulo-Gonzalez. D.** (2005), Posaconazole vs azole norme (FLU / itraconazole) Thérapie pour la prophylaxie des infections fongiques invasives (IFI) chez les patients neutropéniques à haut risque: résultats d'un essai multicentrique randomisé Présenté à la 47e réunion annuelle de l'ASH, Atlanta, GA: Résumé 48.
- 32- Costa. M. S., Boechat. N., Rangel. E.A., dasilva. F.C., desouza. A., Rodrigues. C.R., Castro. H.C., junior.I.N ., Lourenco. M.C.S., Wardell. S. M.S.V., Ferreira.V.F.** (2006), *Bioorg Et Med Chem* ; **14** : 8644-8653.
- 33- Couinaud. C.** (1957), *Le foie, Études anatomiques et chirurgicales*; Masson et Cie édit., Paris.
- 34-Crofton, K.M., Boncek, V.M., Macphail, R.C.** (1989). Evidence for monoaminergic involvement in triadimefon-induced hyperactivity. *Psychopharmacology* **97**, 326–330.

D

- 35- Dalvie. D. K., Kalgutkar. A. S., Khojasteh-Bakht. S. C., Obach. R. S., O'Donnell. J. P.** (2002), *Chem. Res. Toxicol* ; **15** : 269-299. doi: 10.1021 / tx015574b.
- 36- Demko. Z. P., Sharpless. K. B.** (2002), An Expedient Route to tetrazole Analogue of Alfa-Amino Acid ; *Org.lett* ; **4** : 2525-2527.
- 37- Denis. C., René. A., Daniel. A.** (2006), *Chirurgie du foie et de l'hypertension portale, Anatomie du foie et des voies biliaires* ; Masson ISBN 2-294-01497-9.
- 38- Duncan. AW., Hanlon. N. AE., Smith. L et al.** (2012), Frequent aneuploidy among normal human hepatocytes, *Gastroenterology* ; **142**: 25-28.

E

- 39- Eggimann. P., Garbino. J., Pittet. D.** (2003), Epidemiology of Candida species infections in critically ill non-immunosuppressed patients, *Lancet Infect Dis* ; **3** : 685-702
- 40- Elewski. BE., Rich. P., Pollak. R., Pariser. DM., Watanabe. S., Senda. H., Ieda. C., Smith. K., Pillai. R., Ramakrishna. T. Olin. JT.** (2012), Efinaconazole solution à 10% dans le traitement de l'onychomycose ongle de phase III multicentrique, études randomisées, en double aveugle. *J. Am. Acad. Dermatol* ; doi:10.1016 / j.jaad.10.013.
- 41- E.P.A** (U.S Environmental Protection Agency), (2006). 1,2,4-triazole, triazoleAlanine , TriazoleAcetic Acid : Human Health Aggregate Risk sessment in Support of Reregistration and Registration Action for triazole-derivated fungicide Compunds.
- 42- Eriksson. P., Ahlbom. J., and Fredriksson. A.** (1992), Exposure to DDT during a defined period in neonatal life induces permanent changes in brain muscarinic receptors and behaviour in adult mice, *Brain Res* ; **582**: 277-281.
- 43- Espinel-Ingroff. A., Boyle. K., Sheehan. J.** (2001), *Mycopathologia. D*; **150** : 101-115. doi: 10,1023 / A:.1010954803886.
- 44- Evans. WH.** (1980), A biochemical dissection of the functional polarity of the plasma membrane of the hepatocyte, *Biochim Biophys Acta*; **604** : 27-64.

F

- 45- Fernandez. C., Lobo Md Mdel. V., Gomez-Coronado. D., and Lasuncion. M. A.** (2004), Cholesterol is essential for mitosis progression and its deficiency induces polyploid cell formation , *Exp Cell Res* ; **300** : 109–20
- 46- François. R.** (2010), *Elements d'écologie, écologie appliquée ; 7ème édition DUNOD*, paris : p 754

G

- 47- Genin. MJ.** (2002), *J.Med.Chem* ; **9** : 1385-1395.
- 48- Gilchrist. T. L.** (1992), *chimie hétérocycliques. 2.* New York : Wiley.
- 49- Gold (R.E.).** (1993), Cytological studies on the mode of action of Epiconazole a new triazole fungicides, 6th Int. Congr. Plant Pathol., Montreal, Canada, Abstract ; **(083)**: 3.7.13. p. 91.

- 50- Gosling. J. A., Harris. P.F., Whithmore. I., Willan.P.L.T., Mosby.** (2002), Human Anatomy, Atlas en couleurs ; 2 édi, ISBN 2-8041-4258-2 : p154.
- 51- Granier. F.** (2003), Antifongiques classes thérapeutiques, mécanismes d'action, problèmes de résistance, Antibiotiques ; **5** : 39–48.
- 52- Grimmett. MR.** (1975), comprehensive organic chemistry, Barton, DHR , Ollis, W.D.,Eds , Pergame : Oxford Vol ; **4** : p357.
- 53- Groll. AH., Piscitelli. SC., Walsh. T. J.** (2001), pharmacothérapie; **21** : 133-148. doi:10,1592 / phco.21.12.133S.34507.
- 54- Guardiola, F., Codony, R., Addis, P. B., Rafecas, M., and Boatella, J.** (1996). Biological effects of oxysterols: current status. *Food Chem Toxicol* ; **34** : 193–211.

H

- 55- Haith. DA., Rossi. FS.** (2003), évaluation des risques écologiques, l'évaluation des risques de ruissellement des pesticides de gazon, J Environ Qual ; **32** : 447 – 55.
- 56- Heiden. V., Cantley M. G., L. C., and Thompson C. B.** (2009).Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation.Science ; **324**, 1029–1033.
- 57- Highleyman. L., Alan. F.** (2004), Une introduction au foie, Fiche de renseignements. Hepatitis C Support Project ; HCSP. VERSION 1.0 CA 94142-7037. San Francisco.
- 58- Hincky- Vitrat. V.** (2011), Les antifongiques systémiques, Clinique maladies infectieuses - CHU Grenoble.
- 59- Holla. BS., Poojary. KN., Rao. BS., Shivananda. M K., Eur. J.** (2002), Med Chem ; **37** : 511-517. doi: 10.1016 / S0223-5234 (02) 01358-2.
- 60- Homi. B., Road. P., Pune.** (2011), en Inde.Chimie Un Journal asiatique (Facteur d'impact : 4,57. 10 6 (10), 2696-718. DOI: 10.1002 / asia. 00432.
- 61- Horne. W. S., Stout. C. D., Ghadiri. M. R.** (2003), A Heterocyclic Peptide Backbone Modifications in an α -Helical Coiled Coil. J. am. chem. Soc ; **125** : 9372-9376.
- 62- Houlot. R.** (1984), Techniques d'histopathologie et de cytopathologie ; Ed. Maloine : 19-21, 225-227.
- 63- Huisgen, R., Grashey. R., Sauer.** (1964), réactions J. cycloaddition d'alcènes Dans la chimie des alcènes; Patai, S ; Ed , John Wiley & Sons Ltd, New York : p 739.

64- Huisgen.R. (1961), Proc.Chem.Soc.Lond : 357-396.

J

65-Jacques. F. (2001), Le Corps humain, Comprendre notre organisme et son fonctionnement, Québec Amérique ; ISBN 978-2-7644-1108-7 : 110-111.

66-- Janiak.C. (1994), J. Chem. Soc. Chem. Commun : p 545.

67- Janssen. C. (2013), résumé des caractéristiques pharmaceutiques du produit ; BE 190294.

68- Jargot. D., Falcy. M., Robert. S. (2014), miclobutanil, fiche toxicologique FT ; **302** : 1-2.

69- Jean. A., Jacques. C., Yves. H. (2015), FOIE, le foie cellulaire, Encyclopédie universitaire, France ; C0 71, 329.

70- Jean-Yves .S. (2003), Physiologie de lobule hépatique ; Elsevier masson 7-005-A-12-69437 L, C 03, 6 France.

71- Jensen. k. A., Freidiger. A., Danske. K., Videnskab., Selskab. (1943), Mat.Fys. Medd., 20,1.

K

72- Kaplan. A. (1984), Urea. Clin. Chem. Toronto. Princeton : 1257-1260, 437 and 418.

73- Karthikeyan. M. S. (2009), European Journal of Medicinal Chemistry; **44**: 827-833.

74- Kim .S ., Cho. M., Lee. T.,Lee. S., Min. H-Y. et Lee . S.K. (2007), Synthesis and antimicrobial activity of some new indolone-*N*-oxides, soumis. Bioorg. Med. Chem. Lett ; **17** : 4584-4587.

75- Klix. M., Verreet., Beyer. M. (2007), Comparaison de la sensibilité triazole baisse de *la* fusariose zae et sensibilité accrue obtenue par les progrès dans le développement de fongicide triazole, Protection des cultures ; **26**: 683-690.

76- Kolb. H.C., Sharpless. K.B. (2003), The growing Impact of Click Chemistry on Drug Discovery, Drug Discovry Today ; **8** : 1128-1137.

L

78- Lamb. DC., Kelly. DE., Blanc. TC., Kelly. SL. (2001), Le R467K substitution d'acides aminés dans *Candida albicans* stérol les causes de 14 α -déméthylase réduit la résistance aux médicaments par affinité réduite .Antimicrob, Agents Chemother ; **44** : 63-67.

79- Lannelongue, M. (2010), Communication sur le risque potentiel de carcinome épidermoïdelors de traitement de longue durée avec VFEN, rappel sur le risque d'événements indésirables hépatiques ; 75014 Paris.

80- Lathe. R. (2001), Hormone and Hypocampus, *J Endocrinol* ; **169** : 205-231

81- Loi. D., Moore. CB., Denning. D. W. (1997), *Antimicrob Agents Chemother*; **41** : 2310-2311.

82- Lortholary. O., Tod. M., Dupont. B. (1999), *Antifongiques, EMC - Maladies infectieuses* : 1-21.

83- Luo, G., Zeldin, D. C., Blaisdell, J. A., Hodgson, E., and Goldstein, J. A. (1998). Cloning and expression of murine CYP2Cs and their ability to metabolize arachidonic acid. *Arch Biochem Biophys* **357**, 45–57.

84- Lu. Y., Yu. Q., Liu. J. H., Zhang. J., Wang. H., Koul. D., McMurray. J. S., Fang. X., Yung. W. K., Siminovitch. K. A., and Mills. G. B. (2003), Src family protein-tyrosine kinases alter the function of PTEN to regulate phosphatidylinositol 3-kinase/AKT cascades, *J Biol Chem* ; **278**, 40057– 66.

M

85- Manavathu. EK., Cutright. JL., Chandrasekar. P. H. (1998), *Antimicrob Agents Chemother*; **42** : 3018-3021.

86- Manetsch. R., et al. (2003), *J. Am. Chem. Soc* ; **126**, 12809. (b) **Lewis. WG et al.** *Ange. Chem, Int. Ed* .2002 ; **41**, 1053. (c) **Speers, AE et al.** *J. Am. Chem. Soc* ; **125**, 4686.

87- Manser. CE (1992). *The assessment of stress in laboratory animals, Harsham (United Kingdom) ; RSPCA* : 208

88- Marichesse. (2014), *Astuces pour entretenir son foie et éviter l'hépatite, SANTE-BIEN-ETRE, htm* ; **41.110.188.74**.

89- Martinez-Botas. J., Suarez. Y., Ferruelo. A. J., Gomez-Coronado. D., and Lasuncion. M. A. (1999), Cholesterol starvation decreases p34 (cdc2) kinase activity and arrests the cell cycle at G2, *Faseb J* ; **13**, 1359–70.

90- Masuda. K., Toga. T., Hayashi. N., Labelled. J. (1975), *Compd*; **11** : 301-304. doi: 10.1002 / jlcr.2590110219.

- 91- Mathew. P., Neels. A., Albrecht. M., J. Am.** (2008), Chem. Soc ; **130** : 13534-13535
- 92- Micetich. R.G., Maiti. S.N., Spevak. P., Hall. T.W., Yamabe. S., Ishida. N., Tanaka. M., Yamasaki. T., Nakai. A., Ogawa. K.** (1987), J. Med. Chem ; **30** : 1469-1474.
- 93- Moore. DS., Robinson. SD.** (1988), Enchaînés azote Ligands Partie II: Dérivés métal de transition triazoles, tétrazoles, Pentazoles et Hexazine. Dans: Sykes AG, éditeur. Adv Inorg Chem. Academic Press : 171-239.
- 94- Morgan.G.T., Reilley,J.** (1916), J.Am.Chem.soc : 109-155.
- 95- Moser. VC.** (2001), Animal models of chronic pesticide neurotoxicity, Hum Exp Toxicol ; **26**: 321-331.
- 96- Mueller. D.** (2006), fongicide triazole, phytopathologie, Iowa of state university, IC-496 ; **(13)** : p 150 -151.
- 97- Murray. R.L.** (1984), Alanine aminotransferase , Clin. Chem. Toronto. Princeton : 1088-1090.

N

- 98-Nadine. M., Clément. L.** (2010), Appareil digestif, segmentation hépatique ; Collège National des Enseignants de Médecine Interne : 23-32.
- 99- Nesnow, S., Padgett, W. T.Moore, T.** (2011). Propiconazole induces alterations in the hepatic metabolome of mice: relevance to propiconazole-induced hepatocarcinogenesis, Toxicol Sci ; **120** : 297-309.
- 100- Nesnow. S., Ward. W., Moore. T., Ren. H., Hester. SD.** (2009), Discrimination of tumorigenic triazole conazoles from phenobarbital by transcriptional analyses of mouse liver gene expression. Toxicol. Sci ; **110**(1): 68-83, DACO: 4.8.
- 101-Neu. H.C.** (1988), Med. Clin. N. Am ; **72**, 555.
- 102- Norbert. U.** (2006), précis d'histologie, Maloine ; ISBN 2 224 02844 ; X - 9782224028442 : 152-157.

O

- 103- Odds. F. C., Brown. A. J., Gow. P.** (2003), NAR Trends Microbiol ; **11** : 272-279. doi: 10.1016 / S0966-842X (03) 00117-3.

104- Ostrovskii. O.A., Pevzner. M. S., Tselinskii.I.V. (1999), Targets in hétérocyclic system : 467-526.

105- Ouici. H. B., O. Benali., Harek.Y., Al-Deyab.S.S., Larabi. L., Hammouti. B. (2012), Influence of the 2- Mercapto-1-Methyl Imidazole (MMI) on the Corrosion Inhibition of Mild Steel in 5% HCl. *Int. J. Electrochem. Sci* ; **7** : 2304 – 2319.

106- Ouyang. X., Chen. X., Piatnitski. EL., Kiselyov. AS., Il. HY., Mao. Y., Pattaropong. V., Y .Yu., Kim. KH., Kincaid. J., Smith. L., Wong. WC., Lee. SP., Milligan. DL., Malikzay. A., J .Fleming., Gerlak. J., Deevi. D., Doody. JF., Chiang. HH., Patel. SN., Wang. Y., Rolser. RL., Kussie. P., Labelle.M., Tuma. MC. (2005), *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Département de chimie, ImClone Systems, 710 Parkside Avenue, Suite 2, Brooklyn, NY 11226 ; **15** (23): 5154-5159.

P

107- Parsi. (2006), La septoriose du blé résiste aux fongicides, *INRA* ; **16** : 289.

108- Pechamann. H. (1888), *Ber.Dtsch.Chem.Ges* ; **21**, 2751.

109- Pfaller. MA., Messer. SA., Hollis. RJ., Jones. RN., Diekema. D. (2002), *J. Antimicrob Agents Chemother*; **46** : 1723-1727. doi:. 10.1128 / AAC.46.6 : 1723-1727.

110- Postic. C., Girard. J. (2008), Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance, lessons from genetically engineered mice. *J Clin Invest* ; **118** : 829-838.

111- Puc. J., Keniry. M., Li. H. S., Pandita. T. K., Choudhury. A. D., Memeo. L., Mansukhani. M., Murty. V. V., Gaciong. Z., Meek.S. E., Piwnica-Worms. H., Hibshoosh. H., and Parsons, R. (2005), Lack of PTEN sequesters CHK1 and initiates genetic instability. *Cancer Cell* ; **7** :193–204.

R

112- Radu. A., Neubauer, V., Akagi. T., Hanafusa. H., and Georgescu. M. M. (2003). PTEN induces cell cycle arrest by decreasing the level and nuclear localization of cyclin D1. *Mol Cell Biol* ; **23**, 6139–49.

113- Reedijk.J., Wilkinson. G. (1987), *globale de coordination Chimie* ; VoI II, Pergamon, Oxford : 73

- 114- Relyea. R.A.** (2009), A cocktail of contaminants. How mixtures of pesticides at low concentrations affect, aquatic communitise oecologia vol ; **159** (2) : 363-376
- 115- Robinson. JF., Tonk. CE., Verhoef. A., Piersma. AH.** (2012), Signatures de gènes liés à la concentration chez le rat-culture d'embryons toute triazole, Toxicologie de la reproduction (Elmsford, NY) PMID ; **34** (2): 275-283 DOI: 10.1016 / j.reprotox.05.088.
- 116- Rodriguez. R.J., Acosta. Jr., D.** (1996), Inhibition mitochondrial function in isolated rat liver mitochondria by azole antifungals. J. Biochem. Toxicol ; **11** : 127–131.
- 117- Rostom. A.F., Shalaby. A., El-Demellawy. A.** (2003), European Journal of Medicinal Chemistry; **38**: 959-974.
- 118- Rostovtsev.V.V., Green.L.G., Fokin.V.V., KB.Sharpless.** (2002), A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper (I)- Catalyzed Regioselective “Ligation” of Azides and Terminal Alkynes, Angew.Chem.Int ; Ed.**41** : 2596-2599.
- 119- Richard C. Pepper., Jonathan G. Moggs, Timothy. P., Richard. A. C., Jayne W., Gill. M., Felix. W and Ivan. R.** (2007), Mouse Liver Effects of Cyproconazole, a Triazole Fungicide: Role of the Constitutive Androstane Receptor Toxicological sciences ; **99**(1) : 315–325.
- §
- 120- Saag. MS., Dismukes.** (2002), Antifongiques azolés: accent sur les nouvelles triazoles Itraconazole et le fluconazole-toxicité induite dans les hépatocytes de rats: une étude comparative in vitro Hum Exp Toxicol ; **21** 1 : 43-48.
- 121- Sathish. K., Helen. P., Kavitha.** (1989), Synthèse et applications biologiques de dérivés de triazole - un avis SRM, Ramapuram campus, Chennai ; **89**, Inde.
- 122- Sautet. J-C.** (2010), le foie, Cours-Médecine.info ; CNIL 1059084 : 6.
- 123- Schmitt. B., Ferry. C., Daniel. N., Weill. P., Kerhoas. N., Legand. P.** (2006), Effet d'un régime riche en acides gras ω 3 et en CLA9-cis, 11 trans sur l'insulinorésistance et les paramètres du diabète de type 2, OCL Vol 13. N°1 : 70-75.
- 124- Schreier. E.** (1976), Helv Chim Acta; **59** : 585-606. doi: 10.1002 / hlca.19760590223.
- 125- Secrist. J.A., Tiwaeri. K.N., Riordan. J.M., Monegemery. J.Aj.** (1991), Med. Chem ; **34** : 2361. (b) **Neishi. J., Moonoyama. M., Nishiyama.Y., Wakabayashi. S.J.** (1991), Chem. Commun : 1421.

126- Sivakumar. K, F. Xie, B.M. Cash, S. Long, H.N., Barnhill.Q. (2004), A fluorogenic 1,3-dipolar cycloaddition reaction of 3-azidocoumarins and acetylenes, *Wang.Org.Lett* ; **6** : 4603-4609.

127- Subbaraman R, H Ghassemi, Zawodzinski T A. (2007), *Jr J Am Chem Soc*; **129** : 2238-2239. doi:. 10.1021 / ja067332 + [[PubMed](#)] [[Renvoi](#)].

128- Susan. S. (2008), *Gray's anatomy, the anatomical basis of clinical practice* ; 40th edition.

T

129- Tamas. S., Geza. S., Tozsef. R., Tibor. L., Lagos. T., Stephen. H. (1986), *Arch. Pharm (weinheim, Ger)* ; **319** : 238.

130- Thomas. B., Narcis. A. (2014), Tétrathiafulvalène mono- et précurseurs bis-1, 2,3-triazole par click chemistry: diversité structurale et réactivité, DOI: 10.1039 / C4OB00148F, *Org. Biomol. Chem* ; **12** : 3167-3174.

131- Tian. Y. C and Phillips. A. O. (2002), Interaction between the transforming growth factor-beta type II receptor/Smad pathway and beta-catenin during transforming growth factor-beta1-mediated adherens junction disassembly. *Am J Pathol* ; **160** : 1619–1628.

132- Tron. G. C., Pirali. T., Billington. R. A., Canonico. P. L., Sorba. G., Genazzani. A. A. (2008), *Med. Res. Rev* ; **28** : 278-308.

133- Turan.G. Z., Kaplancikli. ZA., Yildiz. MT., Chevallet. P., Kaya. D. (2005), *Eur J Med Chem*; **40** : 607-613. doi:. 10.1016 / j.ejmech.01.007.

V

134- Vandeputte. P. (2008), Mécanismes moléculaires de la résistance aux antifongiques chez *Candida. Glabrata*, *Biologie des organismes Angers th*; **390** : 168.

135- Vatmurge. N. S., Hazra. B. G., Pore. V. S., Shirazi. F., Chavan. P. S., Deshpande. M., V. (2008), *Bioorg. Med.Chem. Lett* ; **18** : 2043-2047. doi: 10.1016 / j.bmcl ; **01** :102.

136- Vilgrain V. (2008), Radioanatomie du foie et des voies biliaires [archive], sur <http://www.med.univ-rennes1.fr> [archive].

W

- 137- Wada. T., Gao. J., and Xie. W.** (2009), PXR and CAR in energy metabolism, *Trends Endocrinol. Metab* ; **20** : 273–279.
- 138- Walczak. K., Gondela. A., Suwinski. J.** (2004), *Eur J Med Chem*; **39** : 849-853. doi: 10.1016 / j.ejmech.06.014.
- 139- Walter et al.** (2006), Benzotriazole and tolyltriazole as aquatic contaminants. 1. Input and occurrence in rivers and lakes, *Environ. Sci. Technol* ; **40** : 7186-7192.
- 140- Wang. P. Y., Weng. J., and Anderson. R. G.** (2004). OSBP is a cholesterolregulated scaffolding protein in control of ERK 1/2 activation. *Science* ; **307** : 1472–76.
- 141- Ward. W.O., Delker. D.A., Hester. S.D., Thai. S-F., Wolf. D.C., Allen. J.W., Nesnow. S.** (2006), Transcriptional profiles in liver from mice treated with hepatotumorigenic and nonhepatotumorigenic triazole conazole fungicides: propiconazole, triadimefon, and myclobutanil. *Toxicol. Pathol* ; **34** : 863–878.
- 142- Wenger. C. et al.** (1984), Alkaline phosphatase. *Clin. Chem. Toronto. Princeton* : 1094-1098.

Y

- 143- Yoann. C., Sylvain. P., Marie-Elisabeth. B., Christophe. M., Stéphane. B., Valérie. Z., Cédric. A., Samuel. P., Karima. A., Marc Lecuit. F., Lanternier. C., Olivier .L. C.** (2014), le Groupe d'étude Mycose français DOI ; **10**, 1371 / journal.pntd.000323.
- 144- Yokozawa T, Cho EJ, Sasaki S, Satoh A, Okamoto T and Sei Y. (2006),**The Protective Role of Chinese Prescription Kangen-karyu Extract on Diet-Induced hypercholesterolemia in Rats. *Biol. Pharm. Bull* ; **29**: 760-5.
- 145- YS. Wu., Lee. HK., SFY., Li.** (2001), *Journal of Chromatography A* ; **912** : 171.
- 146- YU. S., CHAI. X., HU. H., et al.** (2010), Synthesis and antifungal evaluation of novel triazole derivatives as inhibitors of cytochrome P450 14alpha-demethylase, *European journal of medicinal chemistry* ; **45** : 4435–4444.

Z

- 147- 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** : 255-61,0091-6765.

