

الشعبية الجمهورية الديمقراطية الجزائرية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie
Filière : Science biologique
Spécialité/Option : Biochimie Appliquée
Département : Biologie

Thème :

Effet hépatoprotecteur *d'Origanum majorana* sur le stress oxydant induit par le bisphénol A chez les rats

Présenté par :

- ABBES Sarra
- BRAHMIA Boutheina
- DJEBAIHIA Djihane
- OULEDDIAF Anissa

Devant le jury composé de :

| | | | |
|-------------|-------------------------------|-------|------------------------------|
| Président : | M ^{me} ABDAOUI .W | M.C.B | Université 8 Mai 1945 Guelma |
| Examineur : | M ^{me} BENOUSMANE .S | M.C.B | Université 8 Mai 1945 Guelma |
| Encadreur : | M ^{me} MERABET .R | M.A.A | Université 8 Mai 1945 Guelma |

2021-2022

Remerciement

Avant tous nous remercions ALLAH, le tout puissant de nous avoir donné la volonté et la patience et surtout la bonne santé pour pouvoir réaliser ce travail.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à notre encadreur Mme Merabet Rym pour avoir accepté de nous encadrer, pour sa disponibilité, pour l'aide qu'elle a apportée et les connaissances qu'elle a su nous transmettre, et surtout ses conseils judicieux, qui ont contribué à améliorer la qualité de ce travail.

Nous tenons également à remercier les jurys : Enseignantes Abdaoui Wissem et Benousmane Sana pour avoir fait l'honneur d'accepter de juger et d'examiner ce travail. Leur présence va valoriser, de manière certaine, le travail que nous avons effectué.

A toute la promotion BA ; 2021-2022.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.

Je dédie ce travail,

A mon très cher père ABDALLAH

Tout l'encre du monde ne pourrait suffire pour exprimer mes sentiments envers un être très cher Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours.

Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation. Je t'aime papa et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

A ma très chère mère NORA

Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour toi, tes sacrifices innombrables et ton dévouement firent pour moi un encouragement.

Tu as guetté mes pas, et m'a couvé de tendresse, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Puisse Dieu, tout puissant te combler de santé, de Bonheur et te procurer une longue vie.

A ma petite sœur adorée HADIL, Ma très chère, tu es ma sœur, mon amie et ma confidente. Je ne pourrais jamais imaginer ma vie sans toi. Peux-tu garder ta pureté et ta joie de vivre. Je te souhaite tout le bonheur du monde.

A mon petit frère ZINEDDINE, Plus qu'un frère, tu as été un ami pour moi sachant m'écouter et me remonter le moral dans les situations difficiles. Que Dieu vous préserve.

À mon cher mari

Pour la patience et le soutien dont il a fait preuve pendant toute la durée de ce travail et à qui je voudrais exprimer mes affections et ma gratitude

A mes amis Djihane, Boutheïna et Anissa

SARRA

Dédicace

Je remercie Dieu de tout puissant de m'avoir guidé, aidé et donné la foi et le courage pour accomplir ce travail.

*Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à celle et celui que, je n'arriverais jamais à leur exprime mon amour sincère. A l'homme, ma précieuse offre du bon dieu, à qui je dois ma vie, ma réussite et tout mon respect : **mon cher père Alawa.***

*A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : **mon adorable mère Belkebir Sihem***

*À mes chères sœurs : **Racha et Bochra** et mon adorable petite sœur : **Ritéj** qui sait toujours apporter joie et bonheur à toute la famille.*

*À mon cher mari : **Bouchelaghem Mounir** qui n'a pas cessé de me conseiller, et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu le protège et lui offre la chance et le bonheur.*

Je navigue vers mes grands -mères, oncles et tantes. Que Dieu leur accorde une longue et heureuse vie. A tous les cousins, voisins et amis que j'ai connus jusqu'à présent. Merci pour leur amour et leurs encouragements

*A ma meilleure amie : **Imen***

*A mes collègues : **Sarra, Djihane et Anissa***

Voici l'expression de ma profonde gratitude envers vous

Je tiens également à remercier les membres du jury pour Accepter d'évaluer ce travail et tous Commentaires et critiques.

Bouthaina

Je dédie ce modeste travail ,

*A l'âme de mon défunt père, qui m'a soutenu toute ma vie, qui n'a jamais refusé une demande pour moi un jour, et qui dit toujours que je suis satisfait de toi dans ce monde et dans l'au-delà, Dieu seul connaît la sévérité de la tristesse dans mon cœur et combien je souhaitais qu'il soit avec moi et partage ma joie en ce jour, que dieu ait pitié de toi,
Mon cher.*

À celle qui me serre, qui me tient dans ses bras, quand le monde et les risques me rétrécissent. À celle qui se fatigue, qui reste debout et qui endure mes soucis plus que moi.

À la bougie qui s'est fondue pour éclairer mon chemin.

À celle qui possède un cœur plus large que tout cet univers.

*À ma source de douceur, bonheur, force et amour, **Ma Mère***

*A mon chère frère **Amdjed** ; J'ai beaucoup apprécié l'estime et l'amour fraternel que tu me porte. Que Dieu te préserve.*

*A ma grand-mère **Meriem**.*

*A mes collègues : **Bouthéina, Anissa et Sarra***

*A mes amies tout particulièrement : **Loubna, Khaoula et Imene** à toutes ces années passées ensemble, pour votre amitié et soutien. Je vous dédie ce travail témoignage de notre amitié.*

*A ma meilleure amie **Nadine**, toutes les grandeurs de ce monde ne valent pas une amie comme toi.*

A ceux que j'ai eu la chance de connaître, dans les meilleurs et pires moments de ma vie.

A tous ceux que j'aime, à tous ceux qui m'aiment.

DJIFANE

Je dédie ce travail,

A mes chers parents qui sont toujours présent pour m'aider et me conseiller, ils m'ont entouré par leur amour et leur tendresse qui m'ont soutenue, encouragé et pour vivre mes ambitions, mes rêves, mes joies et mon bonheur, sans oublier tous ceux que j'aime.

A mes sœurs : Ibtisseme et Hanene

A tous les bons moments passés ensemble, les four-rire, les vacances, et pour leur amours inconditionnels.

A mes neveux : Yahia, Abdelrahmen et Djenene qui savent toujours apporter la joie et le bonheur à toute la famille.

A mon cher mari Khaled Kedjadja

Pour sa patience et son soutien , je lui dédie ce mémoire

A mes collègues : Djihane, Sarra et Boutheina

A mes amies : Sana et Imene

Anissa

Liste des abréviations

- **Afssa** : Agence française pour la sécurité sanitaire des aliments.
- **AP** : Alkylphénols
- **APEO** : Alkylphénols éthoxylates
- **ALAT** : Alanine aminoférase
- **ASAT** : Aspartate amino transfère
- **BPA** : Bisphénol A
- **BRGM** : Bureau de Recherche Géologique et Minière
- **BBC** : Réactif de Bradford
- **BSA** : Sérum albumine bovin
- **EDTA** : Disodium Ethylenediaminetetraceticacide disodium
- **ERB** : Estrogen-Related béta
- **ERRg**: Estrogen-Related Receptor gamma
- **GSH** : Concentration de glutathion.
- **LDH** : Lactate déshydrogénase
- **INRS** : Institut national de recherche et de sécurité
- **NP** : Nonylphénols
- **NPEO** : Nonylphénols éthoxylates
- **OMS** : Organisation mondiale de la santé
- **OP** : Octylphénol
- **P.A.M** : plantes aromatiques et médicinales
- **PE** : Perturbateurs endocriniens
- **SNC** : Système nerveux central
- **SAA** : d'acide salicylique
- **MDA** : Malondialdéhyde

- **UNEP** : Programme des Nations unies pour l'environnement
- **TGO** : Transaminase Glutamo-oxalo-acétique
- **TGP** : Transaminase Glutamo-pyruvique.
- **Tris** : Hydroxymethyl

Liste des figures et des tableaux

| | |
|---|----|
| Figure 1: Glandes endocrines présentes chez l'Homme | 2 |
| Tableau 1: Fonctions qui nécessitent l'action d'hormones | 3 |
| Figure 2: Les perturbateurs endocriniens dans l'environnement | 5 |
| Figure 3: Structure chimique de phtalates..... | 6 |
| Figure 4: Source d'exposition | 7 |
| Figure 5: Source d'exposition | 7 |
| Figure 6: Structures chimiques des quatre principaux parabènes | 8 |
| Figure 7: Source d'exposition des alkylphénols | 8 |
| Figure 8: Formules des 4-NP, NEO1, NEO2 et 4-tert-OP | 9 |
| Figure 9: Source d'exposition des bisphénol | 10 |
| Figure 10: Structure chimique du bisphénol A | 11 |
| Figure 11 : Mécanisme d'action des récepteurs aux estrogènes. | 17 |
| Figure 12: Représentation des relations entre structure et propriétés pour le bisphénol | 17 |
| Figure 13: l'œstradiol (E2) et du BPA | 18 |
| Figure 14: <i>l'Origanum majorana</i> | 26 |
| Figure 15: Effet de l'extrait méthanolique de la marjolaine sur la peroxydation lipidique induite par le BPA | 38 |
| Figure 16: Effet de la supplémentation en marjolaine sur le taux de glutathion réduit | 40 |
| Figure 17: Effet de la supplémentation en marjolaine sur l'activité de l'ALAT du foie | 41 |
| Figure 18: Le dosage des protéines tissulaire | 42 |

Résumé

Les préoccupations liées aux perturbateurs endocriniens ont émergé au début des années 2000. Bien qu'il possède une faible activité oestrogénique le bisphénol A, a fait l'objet de plusieurs études sur sa toxicité chronique. Cette étude a pour objectif d'évaluer l'effet hépatoprotecteur d'*Origanum majorana*.L après une toxicité aigüe induite par le bisphénol A chez les rats femelles Wistar. 23 rongeurs répartis en six lots ont été oralement supplémentés par 200mg/kg et 400mg/kg de l'extrait méthanolique de la marjolaine pendant 10 jours. Les biomarqueurs de l'oxydation cellulaire (MDA et GSH réduit) ont été dosés. Les résultats obtenus ont montré une protection conférée aux groupes traités par la plante étudiée contre la toxicité de ce perturbateur. Les taux de l'ALAT significativement diminués dans le foie des rates ayant été injecté par le BPA 841mg/kg de masse corporelle (mc) confirmeraient une lyse hépatique chez ces dernies.

On ne peut malheureusement pas se prononcer sur les résultats obtenus, vu que la taille de la population d'étude est inférieure à 5 rats par lot, expliquant l'insignifiance statistique des comparaisons. Il serait donc judicieux de refaire ce travail avec une population d'étude plus large et une période de traitement plus longue.

Mots clés : perturbateur endocrinien, bisphénol A, stress oxydant, foie, *Origanum majorana*.

Abstract

Concerns about endocrine disruptors emerged in the early 2000s. Although it's low estrogenic activity, bisphenol A has been the subject of several studies concerning its chronic toxicity. The objective of this study is to evaluate the hepatoprotective effect of *Origanum majorana*. L after acute toxicity induced by bisphenol A in female Wistar rats. 23 rodents divided into six batches were orally supplemented with 200mg/kg and 400mg/kg of bw with the méthanolicextract of marjoram for 10 days. The biomarkers of cellular oxidation (MDA and reduced GSH) were measured. The results showed a protection conferred to the groups treated by the extract against the toxicity of this disruptor. Significant decrease in ALT levels in the liver of rats injected with BPA 841mg/kg body mass (bw) would confirm cell lyses.

Unfortunately, our results cannot be confirmed, since the size of the population is less than 5 rats per batch, explaining the statistical insignificance of the comparisons. It would therefore be wise to repeat this work with a larger study population with a longer treatment period.

Keywords: endocrine disruptor, bisphenol A, oxidative stress, liver, *Origanum majorana*.

المخلص

ظهرت مخاوف تتعلق باضطرابات الغدد الصماء في أوائل العقد الأول من القرن الحادي والعشرين. على الرغم من انخفاض نشاط هرمون الاستروجين ، فقد كان بيسفينول أ موضوعًا للعديد من الدراسات. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم التأثير الوقائي للكبد من *Origanum majorana.L* بعد السمية الحادة التي يسببها بيسفينول أ في إناث فئران Wistar. تم تكميل 23 قوارض مقسمة إلى ست مجموعات عن طريق الفم بـ 200 مجم / كجم و 400 مجم / كجم من مستخلص البردقوش الميثانولي لمدة 10 أيام. تم فحص المؤشرات الحيوية للأكسدة الخلوية (MDA) وخفض (GSH) أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها الحماية الممنوحة للمجموعات المعالجة بالنبات المدروسة ضد سمية هذا المعطل. إن انخفاض مستويات ALT بشكل ملحوظ في كبد الجرذان المحقونة بـ BPA عند 841 ملجم / كجم من كتلة الجسم (وزن الجسم) من شأنه أن يؤكد التحلل الكبدي في الأخير.

لسوء الحظ ، لا يمكننا التعليق على النتائج التي تم الحصول عليها ، حيث أن حجم مجتمع الدراسة أقل من 5 فئران لكل مجموعة ، مما يفسر عدم الأهمية الإحصائية للمقارنات. لذلك سيكون من الحكمة إعادة هذا العمل مع مجموعة دراسة أكبر وفترة علاج أطول

الكلمات المفتاحية: اضطراب الغدد الصماء ، بيسفينول أ ، الإجهاد التأكسدي ، الكبد *Origanum majorana.L*

Sommaire

Remerciement

Liste des abréviations

Liste des figures et des tableaux

Résumé

Introduction 1

Synthèse bibliographique

Le système endocrinien et ses perturbateurs

I.1. Le système endocrinien 2

I.2. Rôles des hormones..... 3

I.3. Définition des perturbateurs endocriniens 4

I.4. Mécanisme d'action des perturbateurs endocriniens..... 5

I.5. Effets des perturbateurs endocriniens 6

I.5.1. Effets sur la santé..... 6

I.6. Les principaux perturbateurs endocriniens 6

I.6.1. Les phtalates..... 6

I.6.2. Les parabènes..... 7

I.6.3. Les alkylphenols..... 8

I.6.4. Cadmium (Cd) 9

I.6.5. Le bisphénol A..... 10

Toxicité du bisphénol A

II. Toxicité du bisphénol A 11

II.1. Généralités 11

II.2. Utilisations du BPA 12

II.3. Métabolisme du bisphénol A 13

II.4. Voies de contamination..... 13

II.5. Le bisphénol A dans l'environnement..... 14

II.5.1. Devenir et la présence dans l'environnement..... 14

II.5.2. Comportement du bisphénol A dans l'environnement..... 14

II.5.3. Concentrations du bisphénol A dans l'environnement..... 15

II.6. Danger et risques du bisphénol A pour la santé..... 15

II.7. Mécanisme d'action du BPA 16

II.7.1. Les récepteurs aux estrogènes 16

| | |
|--|----|
| II.7.2. Le récepteur couplé aux protéines G, GPR30 | 18 |
| II.7.3. Les récepteurs aux androgènes | 19 |
| II.7.4. Les récepteurs orphelins ERRg | 19 |

Stress oxydant et phytothérapie

| | |
|--|----|
| III.1. Stress oxydant | 20 |
| III.1.1. Définition | 20 |
| III.1.2. Les maladies liées au stress oxydatif | 20 |
| III.1.3. Les radicaux libres..... | 20 |
| III.1.4. Les antioxydants | 21 |
| III.1.4.1. Les antioxydants enzymatiques | 21 |
| III.1.4.2. Les antioxydants non enzymatiques | 21 |
| III.1.5. Le Rôle des antioxydants | 22 |
| III.2. Historique de la phytothérapie | 23 |
| III.2.1. La Marjolaine | 25 |
| III.2.2. Le Genre Origanum | 25 |
| III.2.3. L'Origanum marjorana | 26 |
| III.2.3.1 Nomenclature | 27 |
| III.2.3.2. Description botanique d'Origanum majorana | 27 |
| III.2.3.3. Position systématique d'Origanum Majorana..... | 28 |
| III.2.3.4. Composition chimique d'Origanum Majorana | 28 |
| III.2.3.5. Principes actifs d'Origanum majorana L | 28 |
| III.2.3.6. Les huiles essentielles d'Origanum majorana L..... | 29 |
| III.2.3.7. Propriétés thérapeutiques d'Origanum majorana L | 29 |
| III.2.4. Activité antioxydant de l'extrait de marjolaine | 30 |

Partie Expérimentale

| | |
|--|----|
| 1. Matériel | 31 |
| 1.1. Matériel végétal | 31 |
| 1.2. Matériel animal | 31 |
| 1.2.1. Conditions d'adaptation | 31 |
| 1.2.2. Traitement des animaux | 31 |
| 1.2.3 Sacrifice et prélèvement de sang et des organes | 32 |
| 2. Méthode d'analyse..... | 32 |
| 2.1. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique..... | 32 |
| 2.2. Dosage de l'activité des transaminases tissulaires (foie) | 33 |

| | |
|--|----|
| 2.2.1. Dosage de l'Aspartate-amino-transférase (ASAT)..... | 33 |
| 2.2.2. Dosage d'Alanine aminotransférase (ALAT) | 33 |
| 2.3. Dosage des paramètres de stress oxydatif | 34 |
| 2.3.1. Evaluation de la peroxydation lipidique (MDA) | 34 |
| 2.3.2. Dosage du glutathion réduit (GSH) | 34 |
| 2.3.4. Dosage des protéines tissulaire..... | 35 |
| 3. Analyse histopathologique..... | 35 |
| 4. Analyse statistique..... | 36 |

Résultat et Discussion

| | |
|--|----|
| 1. Effet de la marjolaine sur la peroxydation lipidique induite par le BPA | 37 |
| 2. Restauration des taux en marjolaine sur le taux de glutathion réduit | 39 |
| 3. Variation des niveaux des transaminases (TGP) dans le foie..... | 41 |
| 4. Le dosage des protéines tissulaire | 42 |
| Conclusion..... | 43 |
| Référence Bibliographique | 46 |
| Annexes | 46 |

Introduction

Introduction

Un perturbateur endocrinien est « une substance exogène ou un mélange qui altère la ou les fonction(s) du système endocrinien et cause en conséquence des effets adverses sur la santé d'un organisme dans son ensemble ou de sa progéniture ou encore dans des populations ou des sous-populations » (**Union Européenne, 2011**).

Depuis des millénaires, tous les peuples ont élaboré des médecines selon leur intelligence, leur génie, leur conception culturelle de la santé et de la maladie et les rapports qu'ils entretenaient avec leur environnement. L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques est une pratique aussi vieille que l'histoire de l'humanité (**Eddouks et al., 2007**).

Cependant, malgré la progression de l'industrie pharmaceutique, les gens ne cessent jamais à faire appel à cette médecine pour le traitement de diverses maladies (**Fouché et al., 2000**).

La phytothérapie est l'art de se soigner par les plantes. C'est une médecine très ancienne. Actuellement, de nombreux médicaments tirent leur origine des plantes médicinales. Cette forme de médecine ne s'oppose pas aux autres thérapies, elle augmente l'efficacité d'un traitement ou atténue ses effets secondaires (**OMS, 2000**).

L'Origanum majorana. L est une plante très utilisée dans la médecine traditionnelle, la plante est utilisée pour des différentes raisons, à savoir son utilisation contre l'infertilité féminine, et pour se soigner contre les maladies digestives et respiratoire ainsi que les brûlures et les maux de tête. Malgré l'importance de cette plante peu d'étude ont été faite pour caractériser cette espèce et ces substances bioactives.

C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à étudier l'effet hépatoprotecteur d'*Origanum majorana*. L sur le stress oxydant induit par le bisphénol A. Après induction d'une toxicité aiguë des rats wistar femelle.

Le présent manuscrit est scindé en deux parties la première partie nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques sur : le système et les perturbateurs endocriniens, Le bisphénol A et le stress oxydant et la marjolaine (*Origanum majorana*)

Dans la partie expérimentale, nous développerons le matériel et les méthodes analytiques utilisées l'extraction, le dosage des paramètres non enzymatique du stress oxydant. Les résultats obtenus seront par la suite interprétés et discutés pour enfin conclure par rapport à la problématique de notre étude.

Synthèse bibliographique

Le système endocrinien et ses perturbateurs

I.1. Le système endocrinien

La définition la plus communément admise est celle proposée par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) en 2012 (OMS/UNEP 2012) : « Le système endocrinien regroupe les organes qui sécrètent des hormones : thyroïde, ovaires, testicules, hypophyse... Il constitue le principal lien de communication et de contrôle entre le système nerveux et les fonctions corporelles telles que la reproduction, l'immunité, le métabolisme et le comportement. Le système endocrinien est basé sur des messagers chimiques, les hormones, qui sont sécrétées dans la circulation sanguine (ou d'autres liquides extracellulaires) et peuvent atteindre toutes les parties du corps » (figure 01). Une fois dans la circulation, les hormones modifient la fonction des tissus cibles, qui peuvent être une autre glande endocrine ou un organe. Certaines hormones exercent un effet sur les cellules de l'organe à partir duquel elles sont libérées (effet paracrine), certaines même sur le type cellulaire qui les a produites (effet autocrine). Les hormones peuvent être de nature peptidique de taille variable ou stéroïdes (dérivés du cholestérol) ou bien des dérivés d'acides aminés.

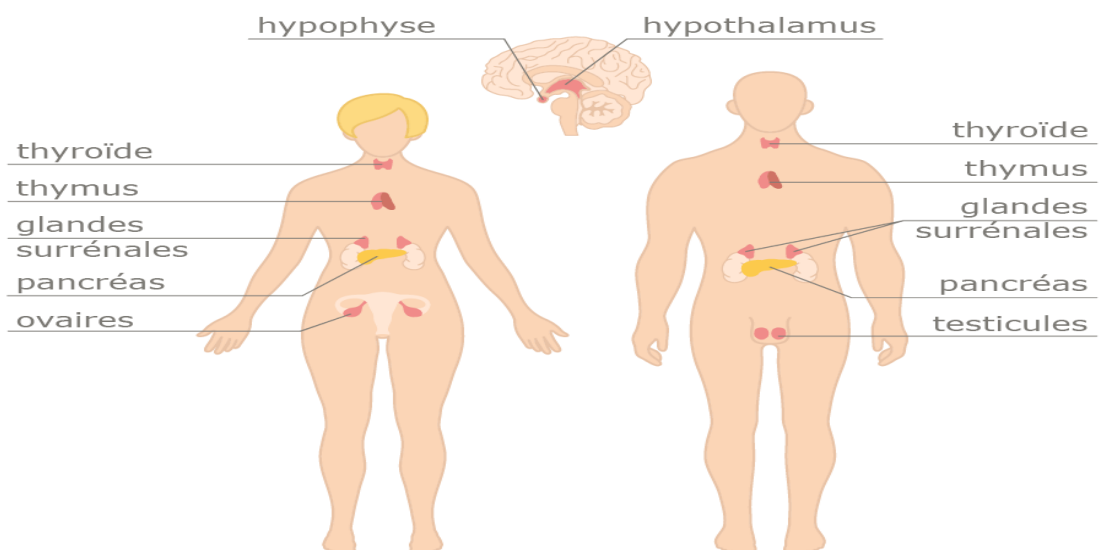


Figure 1: Glandes endocrines présentes chez l'Homme (INRS, 2002).

I.2. Rôles des hormones

Les hormones contrôlent des fonctions différentes comme : la croissance, le développement sexuel, la reproduction, la différenciation cellulaire, l'homéostasie, le métabolisme et d'autres encore. Elles sont efficaces à faible dose. Elles peuvent ou accélérer ou ralentir l'activité de la cellule hôte par rapport à l'activité normale.

Les hormones se lient sélectivement aux récepteurs localisés à l'intérieur ou à la surface des cellules cibles. Les récepteurs intracellulaires interagissent avec des hormones qui régulent la fonction génique (p. ex., corticostéroïdes, vitamine D, hormone thyroïdienne). Les récepteurs de la surface cellulaire se lient avec des hormones qui régulent l'activité enzymatique ou agissent sur les canaux ioniques (p. ex., hormone de croissance, thyrolibérine [thyrotropin-releasing hormone]).

Les troubles endocriniens résultent d'un trouble des glandes endocrines et/ou de leurs tissus cibles (**John et al., 2019**).

La régulation de la sécrétion hormonale se fait par :

- ✓ rétrocontrôle positif : augmentation de la sécrétion
- ✓ rétrocontrôle négatif : diminution de la sécrétion

La régulation peut aussi être influencée par des cycles hormonaux ou systèmes en cascade. En effet la concentration de la première hormone peut influencer la libération de la ou des hormones suivantes, ou au contraire inhiber leurs libérations (**WWF, 2011**).

On peut dresser un tableau des différentes fonctions qui nécessitent l'intervention d'hormones, ainsi que la réponse apportée par ses dernières :

Tableau 1: Fonctions qui nécessitent l'action d'hormones (**Planchon, 2014**).

| Fonction | Hormone | réponse |
|--------------|--|---|
| Reproduction | Androgène, oestrogène, Progésterone, Hormones hypophysaire(LH, FSH, prolactine) | Production de gamètes, facteurs de croissance, lactation, gestation, instauration et du comportement sexuel |

| | | |
|--------------------------------------|--|---|
| Croissance et développement | Hormone de croissance, hormone thyroïdienne, insuline, glucocorticoïdes, androgènes, oestrogènes, progestérone | Large action sur la croissance |
| Maintient de l'environnement interne | Vasopressine, aldostérone, hormone parathyroïdienne et prostaglandine | Contrôle du volume et de la pression artérielle. Contrôle de la balance des électrolytes. Contrôle des os, des muscles et de la graisse |
| Disponibilité énergétique | Insuline, glucagon, hormones thyroïdiennes | Régulation du métabolisme |

I.3. Définition des perturbateurs endocriniens

Les perturbateurs endocriniens (PE) sont des substances chimiques d'origine naturelle ou artificielle étrangères à l'organisme. Elles peuvent interférer avec le fonctionnement du système endocrinien et induire des effets néfastes sur l'organisme d'un individu ou sur ses descendants (OMS, 2002).

Ces substances peuvent interférer avec « la production, la sécrétion, le transport, le métabolisme, la liaison, l'action ou l'élimination des hormones naturelles » (Multigner, 2007).

Les PE peuvent agir de différentes façons :

- En imitant l'action d'une hormone naturelle.
- En se fixant sur les récepteurs des hormones naturelles.
- En gênant ou en bloquant le mécanisme de production ou de régulation des hormones ou des récepteurs, modifiant ainsi les concentrations d'hormones présentes dans l'organisme.

Certains PE sont des composés solubles dans les corps gras (lipophiles), c'est-à-dire qu'ils se fixent sur le tissu adipeux, et peuvent facilement s'accumuler dans les graisses de différentes espèces et ainsi contaminer une grande partie de la chaîne alimentaire. Ainsi, il est possible de doser les PE dans le sang, le tissu adipeux, le lait maternel, le liquide amniotique, ou les urines.

Des études in-vitro ont contribué à mettre en évidence l'existence d'interaction entre ces composés et des récepteurs hormonaux et à comprendre certains de leurs mécanismes

d'action. Les effets des PE sur la santé humaine sont sujets à controverse, notamment leur effet à faible dose. Néanmoins un certain nombre d'affections sont aujourd'hui suspectées d'être la conséquence d'exposition aux perturbateurs endocriniens : baisse de la qualité du sperme, augmentation de la fréquence d'anomalies du développement du tractus génital, de la fonction de reproduction. Le rôle des PE est aussi suspecté pour les cancers dont le développement est influencé par des mécanismes hormonaux (cancers hormonodépendants) (**Patrick *et al.*, 2020**).

D'autres substances chimiques ont des durées de vie plus réduites dans l'environnement, mais sont régulièrement rejetées dans les effluents et les ruissellements d'origine agricole, ou par les environnements urbains, ce qui entraîne leur forte présence dans l'environnement des sources riveraines (**figure 02**) (**Åke Bergman *et al.*, 2012**).

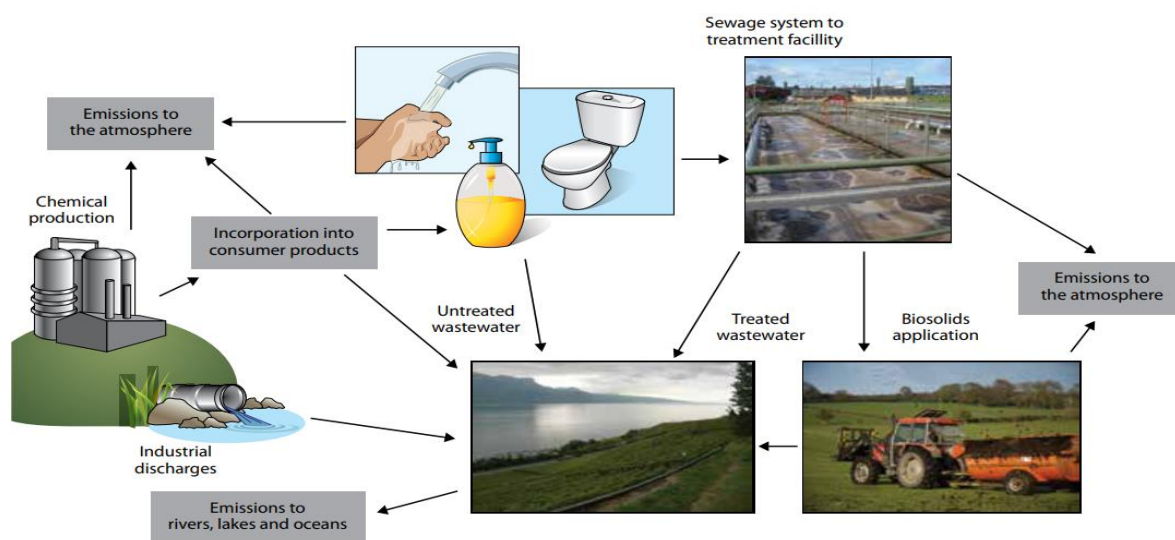


Figure 2: Les perturbateurs endocriniens dans l'environnement (**Åke Bergman *et al.*, 2012**).

I.4. Mécanisme d'action des perturbateurs endocriniens

Les perturbateurs endocriniens peuvent interférer le système endocrinien de trois façons :

- ✓ Effet mimétique ou agoniste : ils imitent l'action d'une hormone naturelle en se fixant sur son récepteur, ce qui entraîne une réponse cellulaire normale.
- ✓ Effet de blocage ou antagoniste : ils se fixent au récepteur hormonal et empêchent la fixation des hormones au niveau des cellules cibles.
- ✓ Effet perturbant : ils gênent ou bloquent la production ou la régulation d'une hormone ou de son récepteur et modifient donc le signal hormonal.

En découle un certain nombre de conséquences potentielles pour l'organisme : altération des fonctions de reproduction, malformation des organes reproducteurs, développement de tumeurs au niveau des tissus producteurs ou cibles des hormones (thyroïde, sein, testicules, prostate, utérus...), perturbation du fonctionnement de la thyroïde, du développement du système nerveux et du développement cognitif, modification du sex-ratio (diminution du nombre de naissance masculine) (**Paristech, 2019**).

I.5. Effets des perturbateurs endocriniens

I.5.1. Effets sur la santé

Les perturbations de l'homéostasie de l'organisme par ces substances peuvent avoir des répercussions diverses sur la santé humaine :

- ✓ Les altérations sur les fonctions de reproduction (baisse de la qualité du sperme, augmentation de la fréquence d'anomalies du développement des organes ou de la fonction de reproduction).
- ✓ L'abaissement de l'âge de la puberté.
- ✓ Les cancers hormonodépendants.
- ✓ La perturbation du fonctionnement de la thyroïde, du développement du système nerveux et du développement cognitif.
- ✓ Des troubles métaboliques tels que le diabète de type 2 et l'obésité sont celles qui font l'objet de plus d'études (**Desbiolle et al., 2019**).

I.6. Les principaux perturbateurs endocriniens

I.6.1. Les phtalates

Les phtalates constituent une large famille de produits chimiques. Ce sont des additifs utilisés couramment dans les matières plastiques notamment le polychlorure de vinyle (PVC) et d'autres matériaux pour les rendre plus transparents, souples et flexibles.

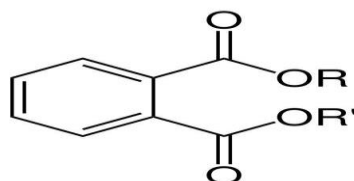


Figure 03: Structure chimique de phtalates

Selon l'institut national de recherche et de sécurité (INRS), ils sont produits à quelque 3 millions de tonnes par an dans le monde, et sont présents partout à des niveaux différents dans notre environnement quotidien. Ainsi, on les retrouve dans pratiquement tous les articles en PVC de manipulation quasi-quotidienne : profilés, anneaux de dentition, ballons, nappes, tuyaux, rideaux de douche, imperméables, colles, lubrifiants, fils et câbles, dallages, couvertures plastifiées, emballage de certains produits notamment alimentaires, et produits de santé (figure 04) (Ansm, 2013).

Dans les médicaments autorisés en France, les phtalates sont utilisés comme excipients principalement dans l'enrobage gastro-résistant des comprimés ou des gélules à libération modifiée.



Figure 4: Source d'exposition (Desbiolle *et al.*, 2019).

I.6.2. Les parabènes

Les parabènes ou para-hydroxybenzoates – sont une famille de molécules chimiques formées par les esters de l'acide para-hydroxy benzoïque (Nowak *et al.*, 2018). Les parabènes les plus couramment utilisés sont le méthylparabène, l'éthylparabène, le propylparabène et le butylparabène (Fransway *et al.*, 2019). Leur première utilisation remonte au milieu des années 20, où ils ont été employés comme agents conservateurs dans des produits pharmaceutiques (figure 05).

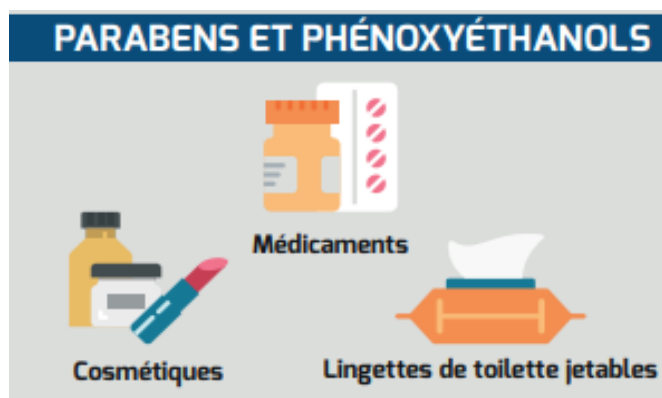


Figure 5: Source d'exposition (Desbiolle *et al.*, 2019)

Ils peuvent être classés en deux groupes sur la base de leurs structures chimiques, notamment le groupe alkyle. Le premier groupe comprend les parabènes à chaînes courtes que sont le méthylparabène et l'éthylparabène. Le deuxième groupe comprend les parabènes à chaînes longues et inclut le propylparabène et le butylparabène (**figure 06**).

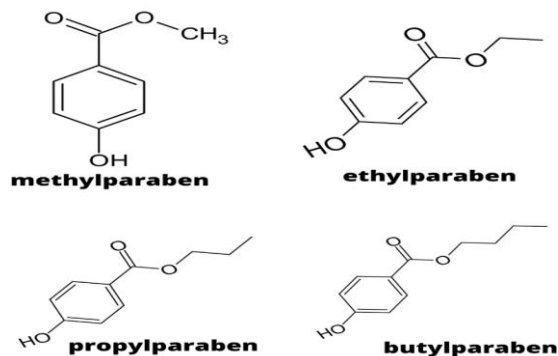


Figure 6: Structures chimiques des quatre principaux parabènes

I.6.3. Les alkylphénols

Ils sont employés dans la fabrication d'adhésifs, de peintures, d'émulsions de cires de parquets, de produits ménagers, dans les matériaux de construction, l'industrie des cuirs, des textiles et du bois. Ils sont également présents dans les dés infectants (**figure 07**) (CA Frye, 2011).



Figure 7: Source d'exposition des alkylphénols (Desbiolle *et al.*, 2019)

Les AP comme les alkylphénols éthoxylates (APEO), sont des composés organiques de synthèse qui n'existent pas à l'état naturel. Il est difficile de connaître le tonnage exact des AP produits au niveau mondial, les industriels étant peu enclins à communiquer leurs données. En Europe, 73 500 tonnes de NP ont été fabriqués en 2002 (Soares, 2008). Ils servent d'intermédiaires dans la fabrication d'APEO et se forment également lors de la dégradation de ceux-ci.

Dans la famille des AP, le 4-nonylphénol (4-NP) englobe un mélange de nonylphénols à chaîne linéaire ou ramifiée substitués en position 4 sur le noyau phénolique, la forme linéaire étant très peu présentée. Le 4-NP représente environ 80% des nonylphénols (NP) utilisés dans les mélanges commerciaux. La principale source de NP dans l'environnement provient de la dégradation des nonylphénols éthoxylates (NPEO).

L'octylphénol (OP), désigne le 4-tert-OP, le seul isomère employé dans les mélanges commerciaux. La production d'OP représente environ 23 000 tonnes par an pour l'Europe.

La présence du 4-tert-OP dans l'environnement résulte de sa production et de son utilisation tant qu'intermédiaire de synthèse chimique. Il est également présent comme impureté dans les solutions de di-nonylphénol (**Brignon, 2017**).

Les AP sont des molécules composées d'un phénol substitué par un groupe alkyle (**figure 08**).

Les APEO sont formés par réaction d'une molécule d'AP avec une ou plusieurs molécules d'oxyde d'éthylène (**Gauthier, 2010**).

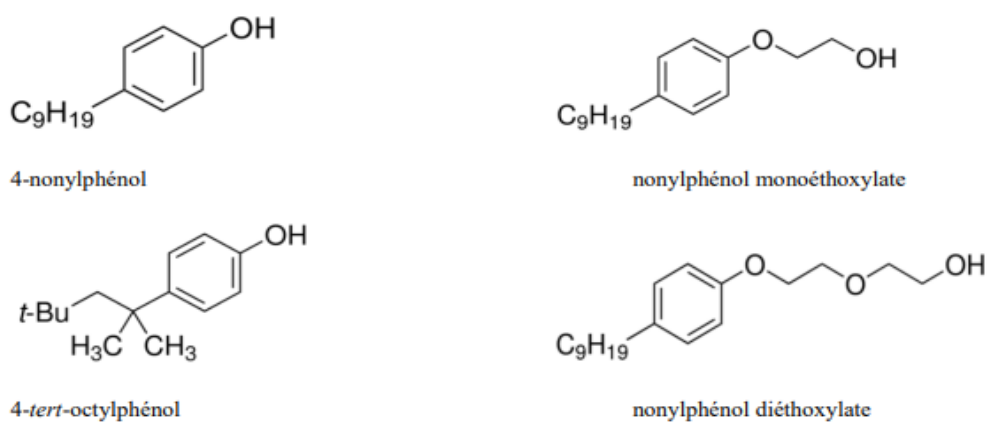


Figure 8: Formules des 4-NP, NEO1, NEO2 et 4-tert-OP (**Gauthier, 2010**).

I.6.4. Cadmium (Cd)

Le Cd est un métal blanc argenté ayant des propriétés physiques proches de celles du Zn (**Sarkar et al., 2002**). Le Cd est utilisé dans la fabrication des piles (nickel-Cd), dans la préparation par galvanisation de couches protectrices de fer (Fe) bien malléables mais résistantes à la corrosion ainsi que dans les composés d'alliages. De plus, on utilise les composés de Cd comme pigments de peintures résistants à de hautes températures (**Bliefer, 2004**).

Dans l'environnement, le Cd provient pour la plus grande partie des usines élaborant ou traitant les métaux et des unités d'incinération de déchets. Il parvient dans le sol par le processus de déposition par les engrais qui en contiennent et par les boues d'épuration. Il parvient dans les eaux avant tout par dépôt à partir de l'air, mais aussi par les eaux de précipitation et par l'eau de ruissellement de décharges d'ordures.

I.6.5. Le bisphénol A

Le bisphénol A (BPA) est un produit chimique très répandu utilisé dans la fabrication de plastiques polycarbonates, de résines époxydes et de papier thermique (Huang *et al.*, 2018). Par ailleurs, l'exposition au BPA se produit principalement par le biais de l'alimentation, et des niveaux mesurables de BPA peuvent être trouvés chez la plupart des gens (Centers for Disease Control and Prevention, 2010). L'exposition à ces substances se fait également par voie aérienne et cutanée. Le BPA, présent dans les emballages et les contenants, migre vers les aliments et boissons consommés (figure 09).

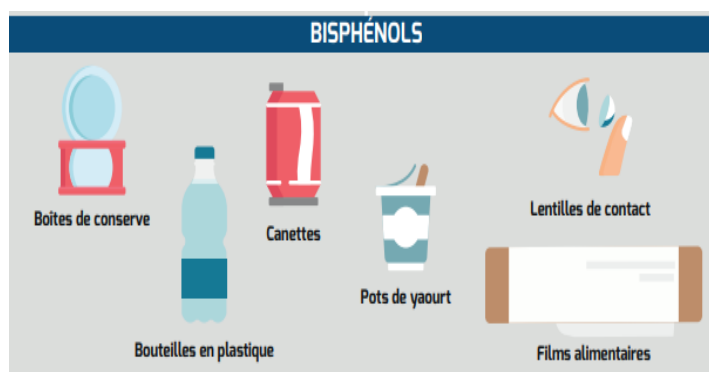


Figure 9: Source d'exposition des bisphénol (Desbiolle *et al.*, 2019)

Toxicité du bisphénol A

II. Toxicité du bisphénol A

II.1. Généralités

Le bisphénol A (BPA, 4,4'-dihydroxy-2,2-diphénylpropane en nomenclature IUPAC) (N°CAS 80-05-7), composé de deux cycles aromatiques (phényles) liés par un pont carbone, appartient à la famille des diphenylalcanes hydroxylés ou bisphénols. Découvert par le chimiste russe Alexandre Dianin en 1891, il provient de la condensation de l'acétone avec deux phénols. La réaction est catalysée par l'acide chlorhydrique ou par une résine de polystyrène. **(Site 01)** La structure chimique du BPA est présentée (**Figure 10**).

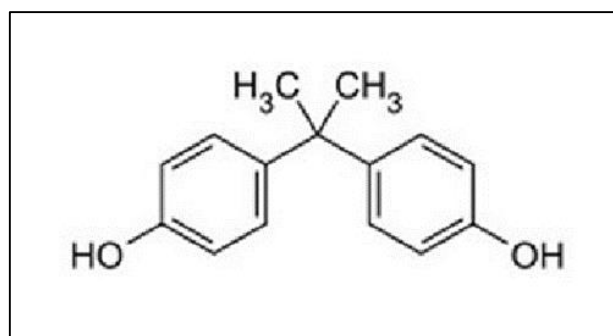


Figure 10: Structure chimique du bisphénol A (BPA). **(01)**

Le bisphénol A est un solide blanc qui peut se présenter sous forme de poudre, écailles ou cristaux. Le bisphénol A se caractérise par une faible pression de vapeur et une solubilité modérée dans l'eau. Il est soluble dans l'acide acétique, les solutions aqueuses alcalines et dans certains solvants tels que l'acétone, l'éthanol et le méthanol **(ECSC, 2008)**.

Le BPA possède de nombreux avantages, mais la découverte du diéthylstilbestrol le fait oublier, de par ses caractéristiques physico-chimiques plus intéressantes, notamment la stabilité de la molécule. Néanmoins, de nombreux effets secondaires sont à déclarer comme des problèmes de stérilité chez les enfants nés de mères traitées au diéthylstilbestrol. La molécule sera interdite dans les années 1970 **(Reed, 2013)**.

Les bisphénols sont des perturbateurs oestrogéno-endocriniens de par leur action à faible dose sur les récepteurs des œstrogènes. Ils peuvent mimer les ligands naturels des récepteurs oestrogéniques entraînant leur blocage ou une activation dérégulée **(Beausoleil et al., 2018)**

II.2. Utilisations du BPA

L'étude de l'Anses sur les usages du BPA a montré une très grande diversité d'usages, et donc des produits et articles, susceptibles de contenir du BPA (Anses, 2011).

Ainsi, l'enquête de filières réalisée a permis de recenser les principaux usages suivants :

- ✓ Monomère pour la synthèse de polymères (ex : polycarbonates)
- ✓ Réactif dans la synthèse de résines (ex résine époxy)
- ✓ Révélateur pour papier thermique
- ✓ Utilisation de BPA dans la composition de fluides caloporteurs et lubrifiants
- ✓ Utilisation de BPA dans l'industrie des peintures
- ✓ Utilisation de BPA en tant qu'antioxydant dans les PVC
- ✓ Utilisation de polymères à base de BPA dans des produits cosmétiques (hors France) et ciments dentaires.

Globalement, la production mondiale de BPA est destinée pour 2/3 à la fabrication de polycarbonates et pour 1/3 à la production de résines époxydes.

➤ Secteurs d'utilisation du polycarbonate

Les domaines d'utilisation des polycarbonates sont très larges. Ainsi, son usage est répandu dans le secteur électrique, la construction, l'automobile, les biens de consommation, entre autres. En outre, les polycarbonates sont employés pour la fabrication de produits destinés à l'emballage alimentaire (bonbonnes d'eau réutilisables, les biberons, la vaisselle, le petit électroménager de cuisine, les récipients de conservation, etc.), de produits plastiques non alimentaires (lunettes, montures, verres solaires, les CD, DVD, écrans de protection) et dans certains équipements médicaux (oxygénateurs de sang, respirateurs dialyseurs et instruments à usages uniques (INERIS, 2010).

➤ Secteurs d'utilisation des résines époxy

Les résines époxy sont utilisées pour leur capacité de protection contre la corrosion et leur stabilité thermique. Les différents usages des résines époxydes sont : (Bardonnnet, 1992 ; INRS, 2002)

- ✓ Le vernissage intérieur des boîtes de conserve.
- ✓ Les revêtements des tubes et canalisations de gaz, d'eau potable (en béton et en métal).
- ✓ La peinture anticorrosion des carrosseries de véhicules (sous-couches).
- ✓ Les équipements électroménagers (frigidaires, lave-vaisselles, aspirateurs).

II.3. Métabolisme du bisphénol A

Les effets du bisphénol A sur un organisme dépendent de sa concentration en forme active et de la durée d'exposition des cellules. Chez le rat comme chez l'homme, son métabolisme et sa clairance sont rapides (élimination en 24 heures chez l'Homme). Il peut être détecté dans le sang peu de temps (quelques minutes) après absorption, et retrouvé dans les urines et les selles (**Vandenberg et al., 2007**). Chez l'homme, le BPA est rapidement absorbé par le tractus gastrointestinal, et conjugué dans le foie, le BPA conjugué est rapidement filtré depuis le sang par les reins, et excrété dans les urines. Cette voie métabolique est différente de celle observée chez le rat, chez qui une grande partie du BPA conjugué est transportée dans la bile et excrétée par voie digestive (**Völkel et al., 2002**). La voie métabolique principale est donc la glucuroconjugaison qui a lieu dans le foie et induit la formation d'un métabolite, le bisphénol A conjugué (inactif, sans activité œstrogénique), et réduit donc la quantité de bisphénol A libre (actif) (**Nishikawa et al., 2010**) (**Ginsberg et al., 2009**). Une voie métabolique mineure, moins étudiée, consiste en une réaction d'oxydation, le composé parent, ainsi que le composé oxydé, sont toxiques. Ce mécanisme pourrait jouer un rôle dans le stress oxydatif (**Kovacic, 2010**).

Cependant, métabolisme rapide n'exclut pas absence de toxicité. L'EFSA en 2008 considérait pourtant que le métabolisme rapide du bisphénol A chez l'homme – métabolisme plus rapide que chez le rat en raison de l'absence de passage entéro-hépatique du BPA conjugué (**Völkel et al., 2002**) n'induisait pas d'accumulation, et qu'il était logique de réduire l'importance des études montrant des effets à petites doses chez les rongeurs (**Ginsberg et al., 2009**).

II.4. Voies de contamination

Quatre-vingt-dix-neuf pour cent de la contamination humaine par le BPA se fait par ingestion (**Vandenberg et al., 2007**). Pendant le stockage des aliments, une partie du BPA composant le contenant alimentaire est libérée par hydrolyse de la liaison ester qui lie les différents monomères, et se retrouve dans l'aliment. Ce phénomène est amplifié si l'on chauffe le récipient ou dans certaines conditions acido-basiques (**Kubwabo et al., 2009**). Le BPA peut aussi pénétrer dans l'organisme par voie transcutanée ou à travers les muqueuses (par exemple lorsqu'il est inhalé), mais ces voies sont anecdotiques.

II.5. Le bisphénol A dans l'environnement

II.5.1. Devenir et la présence dans l'environnement

Le BPA présent dans l'environnement a une origine anthropique. Il est présent dans les rivières, les estuaires, les lacs, les sédiments, et dans le biote aquatique (**Commission Européenne, 2003**).

D'après Environnement Canada (**2008**), le BPA se dégrade rapidement dans les milieux aquatiques aérobies. Cependant, il montre une forte persistance dans les milieux aquatiques anoxiques (demi-vie supposée supérieure à une année).

De plus, de nombreuses études ont montré que le BPA était présent dans les sédiments, milieu pour lequel, il n'y a pas de rejet direct.

II.5.2. Comportement du bisphénol A dans l'environnement

Le BPA est présent dans tous les milieux environnementaux. Dans le rapport d'évaluation des risques de 2003, la Commission Européenne a estimé que, à émission égale dans tous les milieux, le BPA dans les milieux environnementaux serait distribué à 73,7 % dans les eaux, 22,3 % dans le sol et 4 % dans les sédiments (**Commission Européenne, 2003**).

Le BPA n'est pas volatil et a un temps de vie très court dans l'atmosphère. Il est donc très improbable de concentrer des grandes quantités de BPA dans l'atmosphère (**Commission Européenne, 2003**). Le temps de demi-vie dans l'eau de rivière aérée est, en moyenne, de 3 à 5 jours. La dégradation du BPA dans l'eau douce est plus rapide que dans l'eau de mer (**Tian et al., 2009**).

La dégradation du BPA dans l'eau de mer serait majoritairement chimique favorisée en présence de chlorure de sodium (**Kang, 2005**). Le temps d'exposition plus important dans les eaux de mer, induit une présence plus importante dans les organismes marins que dans les organismes d'eau douce (**Tian et al., 2009**).

D'après le BRGM (**2005**), les connaissances sur le comportement du BPA dans la phase aqueuse sont assez limitées. Notamment, dans les effluents de station d'épuration, le BPA se retrouve non pas dans la phase réticulaire colloïdale comme la plupart des composés, mais dans la phase dissoute. Nous supposons que cette propriété amoindrisse les possibilités de transferts du BPA dans les boues.

II.5.3. Concentrations du bisphénol A dans l'environnement

Le BPA est retrouvé dans les rivières, les lacs et les océans (**Tian *et al.*, 2009**).

En France très peu de données sont disponibles, le BPA n'est pas suivi par les Agences de l'eau. Lors d'une campagne d'analyse des métaux et micropolluants Organiques réalisée par le CIPEL. (Commission Internationale pour la protection des eaux du Léman contre la pollution, 2006), le BPA a été décelé dans le lac Léman à une concentration d'environ 7,3 ng/L. Le lac Léman est le seul lac français sur lequel une campagne de recherche de la présence de BPA a été réalisée.

A ce jour, la campagne RSDE24 (action de recherche et de réduction des rejets de substances dangereuses dans l'eau) ne recense pas le BPA.

➤ Eau de surface

En Allemagne, le BPA a été mesuré dans des eaux de rivières et de lacs autour de Berlin. Une autre campagne portant sur 52 analyses d'eau de surface a été réalisée dans le pays. Nous disposons également de données en Espagne, en République Tchèque et au Pays Bas (**Commission Européenne, 2003**). Celles-ci sont présentées dans le paragraphe suivant.

➤ Sédiments

Le BPA présent dans les eaux de surfaces peut être adsorbé par les sédiments. La concentration de BPA est d'ailleurs en règle générale plus élevée dans les sédiments que dans les eaux de surfaces. Dans le système marin, les sédiments sont connus pour être très chargés en polluants organiques

II.6. Danger et risques du bisphénol A pour la santé

Certaines études en révélé un effet avéré chez l'animal, effet sur :

- ✓ La reproduction
- ✓ La glande mammaire
- ✓ Le métabolisme
- ✓ Le cerveau et le comportement

Et des effets suspectés chez l'homme, effet sur :

- ✓ Reproduction

✓ Métabolismes et pathologies cardiovasculaires

Ces effets pourraient être observés mêmes à de faibles niveaux d'exposition, au cours des phases sensibles des développements. Ainsi, une réduction de l'exposition de la population au bisphénol A a été recommandée, notamment par sa substitution dans les matériaux destinés à entrer en contact avec les denrées alimentaires, en particulier pour les populations les plus sensibles (nourrissons, jeunes enfants, femmes enceintes et allaitantes). Le bisphénol A est aussi suspecté d'être un perturbateur endocrinien (substance altérant la fonction du système endocrinien et induisant des effets néfastes sur la santé. **(02)**)

II.7. Mécanisme d'action du BPA

II.7.1. Les récepteurs aux estrogènes

➤ L'effet agoniste du BPA

Les récepteurs aux estrogènes appartiennent à la famille des récepteurs nucléaires.

Ils agissent comme des facteurs de transcription activés par leur ligand pour réguler l'expression des gènes cible.

Chez l'homme, 2 sous types de récepteurs ont été identifiés : ER α (surtout exprimé dans l'utérus, le foie et les reins) et ER β (surtout exprimé dans l'ovaire, prostate, poumons, tractus intestinal, système hématopoïétique et SNC). Les principaux ligands de ces récepteurs sont le 17 β -estradiol, l'estrone et l'estriol. **(03)**

Lorsque l'estradiol se fixe sur le récepteur, au niveau de LBD (Ligand Binding Domain), cela conduit à un changement conformationnel et active donc le récepteur. Il va alors se dimériser avec un autre récepteur ER.

Ce complexe va migrer dans le noyau de la cellule pour se lier sur une région de l'ADN : ERE (Estrogène Responsive Élément) et entraîner la transcription génique. **(Figure 11)**

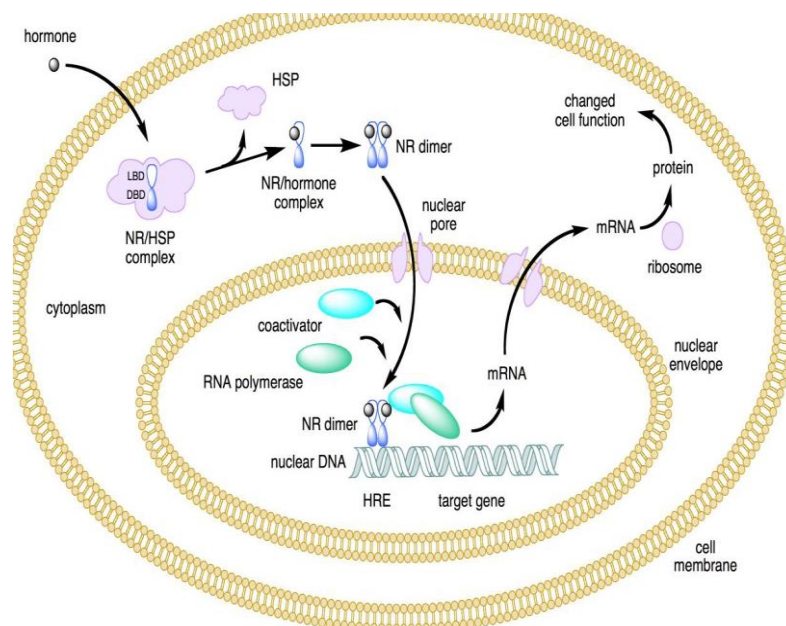


Figure 11 : Mécanisme d'action des récepteurs aux estrogènes. (03)

Les récepteurs aux estrogènes ERs peuvent se lier à un nombre important de molécule structurellement différente. Deux caractéristiques essentielles doivent être présentes pour exercer une activité estrogénique :

- ✓ Cycle phénolique = Groupement aromatique hydroxylé
- ✓ Squelette hydrophobe (Figure 12)

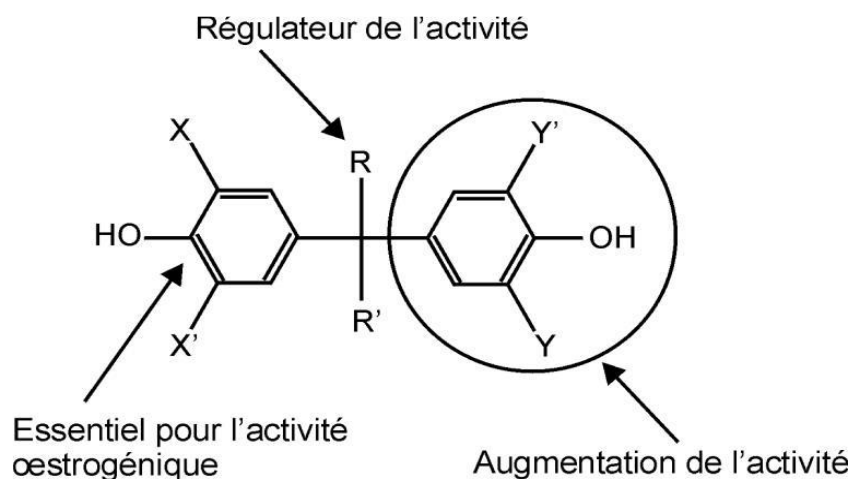


Figure 12: Représentation des relations entre structure et propriétés pour le bisphénol (04)

De ce fait, le BPA est donc capable d'interagir avec les récepteurs ERs et d'avoir une activité ostrogénique.

En raison de ses 2 noyaux phénoliques, le BPA possède une complémentarité avec les récepteurs aux estrogènes ER α et ER β . Il rentre en compétition avec

l'estrogène pour la liaison à ER α et ER β , néanmoins son affinité est beaucoup plus faible que celle de l'estradiol c'est à dire 10 000 fois plus faible. Cependant, le recrutement de cofacteurs transcriptionnels diffère entre l'estradiol et le BPA, ainsi la réponse génique diffère également. (**Figure 13**)

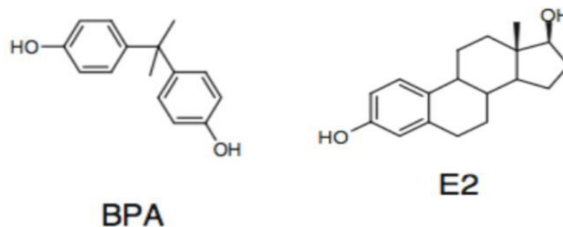


Figure 13: l'œstradiol (E2) et du BPA

Il est considéré comme un Sélective Estrogène Receptor Modulator (**SERM**). Les SERM sont des molécules qui ont une activité agoniste partielle. Cela en fait donc une molécule moins active que E2 sur le récepteur ER α . Certains effets de l'estradiol in vivo dans l'utérus ne sont pas observés lors de la liaison du BPA. Le BPA n'entraîne pas d'augmentation du poids de l'utérus contrairement à l'estradiol alors que l'augmentation de l'expression du récepteur à la progestérone est maintenue.

➤ **Effet antagoniste**

En fonction du tissu sur lequel le récepteur est localisé l'action du BPA peut être différente c'est à dire qu'il peut avoir une action antagoniste.

Prenons l'exemple des cellules osseuses, lorsque l'estrogène se fixe sur son récepteur elle entraîne une augmentation de la densité osseuse mais avec le BPA la densité osseuse tend plutôt à diminuer. (**Gibert *et al.*, 2011**)

II.7.2. Le récepteur couplé aux protéines G, GPR30

➤ **L'effet insulinothrique du BPA**

Le GPR30 est un récepteur constitué de 7 domaines transmembranaires organisés en cercle et qui possède en son centre un site de liaison pour son ligand. Lorsque le ligand se lie au récepteur il induit un changement de conformation ce qui lui permet d'activer la protéine G qui va ensuite moduler l'activité d'une enzyme ou d'un canal ionique. La liaison du BPA à ce récepteur a été décrite à faible concentration.

Ces récepteurs se désensibilisent et s'internalisent lors d'une exposition trop prolongée et répétée à leur ligand. Le GPR30 serait impliqué au niveau des cellules bêta pancréatiques, en effet il a été montré qu'il était impliqué dans l'effet insulinothrique de l'estrogène. Il augmente la sécrétion d'insuline ainsi que la sensibilité à l'insuline. De par

son analogie structurale, cela suggère que le BPA aurait un mode d'action similaire. (Gould *et al.*, 1998)

II.7.3. Les récepteurs aux androgènes

Plusieurs études ont montré qu'il pouvait interagir avec les récepteurs aux androgènes (AR) mais son activité vis à vis de ces récepteurs est antagoniste. Cela explique l'effet anti-androgénique provoqué par BPA (Maia *et al.*, 2009). Les effets du BPA à faible dose s'expliqueraient par l'action synergique à travers les récepteurs ERs (action agoniste et féminisante) et AR (antagoniste l'effet masculinisant).

II.7.4. Les récepteurs orphelins ERRg

L'équipe de Vincent Laudet à l'institut de Génomique Fonctionnelles de Lyon a montré que le BPA pourrait agir sur le métabolisme via une autre cible que les récepteurs aux estrogènes, les récepteurs ERRg. C'est un récepteur dit « orphelin » car son ou ses ligands ne sont pas connus.

ERRg est un régulateur important du métabolisme, il est exprimé dans de nombreux tissus comme le cœur, muscle, rein, tissus adipeux, système nerveux. Dans le foie il régule l'expression des gènes de la glycogénèse. L'affinité du BPA, de l'ordre du nanomolaire, pour ce récepteur est mille fois plus élevée que pour les récepteurs aux estrogènes. Selon les chercheurs, les effets métaboliques du BPA dans la production d'insuline pourraient être liés à une activation anormale du récepteur ERRg. Ainsi ERRg pourrait être un acteur majeur de l'obésité induit par le BPA chez le nourrisson. (Août 2020).

Stress oxydant et phytothérapie

III.1. Stress oxydant

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive des radicaux oxygénés toxiques, situation que les chercheurs impliquent dans la plupart des maladies humaines (**Favier, 2003**).

III.1.1. Définition

Le stress oxydant est généralement décrit comme un déséquilibre entre la capacité antioxydant et le niveau des espèces réactives à l'oxygène (ERO) en faveur de ces derniers entraînant ainsi l'accumulation du produit de l'oxydation. Ce déséquilibre induit une altération des systèmes de signalisation cellulaire et des autres fonctions (**Azzi, 2007**).

L'appellation « espèces réactives à l'oxygène » n'est pas restrictive, elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit radical super oxyde (O_2^-), radical hydroxyle (OH), monoxyde d'azote (NO), mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et les peroxy-nitrites ($OONO^-$) (**Roberts et al., 2010**).

Ces espèces sont impliquées dans la régulation des activités cellulaires, signalisation et différenciation cellulaire, activation des voies métaboliques et système immunitaire (**Manea et al., 2010**).

III.1.2. Les maladies liées au stress oxydatif

Le stress oxydatif engendre diverses altérations biochimiques intracellulaires telles que :

Oxydation de l'ADN, Oxydation des protéines, Oxydation des composés lipidiques, oxydation du glucose (**Loft et al., 2008**).

Le stress oxydant est principalement la cause initiale de plusieurs maladies : cancer, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré, le diabète, maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 2003**).

III.1.3. Les radicaux libres

Une espèce chimique (atome, molécules ou fragment de molécule contenant au moins un électron célibataire ou non apparié sur sa couche électronique externe ce qui augmente sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour devenir stable (**Bonnerfont et al., 2003**).

Les radicaux libres proviennent à la fois de sources endogènes (mitochondrie, réticulum endoplasmique, cellules phagocytaires...) et de sources exogènes (pollution, alcool, fumée de tabac, solvants industriels, pesticides et rayonnement) (**Phaniendra et al., 2015**). Lorsque ces radicaux livres sont produits plus rapidement ils ne peuvent être neutralisés par les systèmes de défense antioxydant ce qui permet le développement de stress oxydatif (**Picchi, 2006**).

III.1.4. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. L'organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres (**Favier, 2003**).

III.1.4.1. Les antioxydants enzymatiques :

- ✓ Superoxyde dismutase
- ✓ Catalase
- ✓ Glutathion peroxydase

D'après (**Halliwell, 2006**), ces enzymes antioxydants permettent l'élimination des radicaux libres, selon les réactions suivantes :

III.1.4.2. Les antioxydants non enzymatiques :

Ce système comprend plusieurs molécules telles que le glutathion, l'acide urique et les protéines de stockage des métaux de transition (ferritine, transferrine, lactoferrine, céruloplasmine) (**Savini et al., 2013**). D'autres substances exogènes apportées par l'alimentation, telles que les vitamines E (tocophérol), C (acide ascorbique), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes agissent en piégeant les radicaux et en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules stable.

➤ **Le vitamine E**

C'est un terme qui désigne un ensemble de composés phénoliques appelés tocophérols) α , β , \hat{U} , δ (ou tocols. Ils diffèrent les uns des autres par la position des groupes méthyles sur le cycle aromatique. C'est l' α tocophérol qui est biologiquement le plus efficace. Plus de 50% de la vitamine E se trouvent dans les tissus adipeux, le caractère hydrophobe de cette vitamine lui permet de s'insérer au sein des membranes biologiques riches en acides gras polyinsaturés, où elle joue un rôle protecteur efficace en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par les espèces réactives (**Papas, 2008**).

➤ **La vitamine C**

Elle est essentielle pour l'homme, car elle a plusieurs fonctions critiques comme un cofacteur enzymatique et un antioxydant (**Kim et al., 2013**), en tant que cofacteur enzymatique, la vitamine C est impliquée dans la synthèse des catécholamines, du collagène, la synthèse de Carnitine, la transformation de la dopamine en noradrénaline, le métabolisme des stéroïdes, de La tyrosine, du cholestérol et la formation de l'acide biliaire. Comme antioxydant, la vitamine C protège l'ADN, les protéines, les lipides, les enzymes et d'autres antioxydants par le piégeage des radicaux libres et la réduction des ions métalliques (**Ge et al., 2008, Pallauf et al., 2013**).

➤ **Les caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont généralement de bons capteurs de radicaux hydroxyles OH• et Peroxydes RO. Ils sont donc susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique. Les caroténoïdes peuvent aussi capter l'oxygène singulet, ce qui leur permet d'exercer une protection vis-à-vis des dommages induits par les rayons ultraviolets (**Gardés et al., 2003**).

Le β-carotène (provitamine A), le composant le plus efficace dans la famille des caroténoïdes, est une substance liposoluble susceptible d'être transformé en vitamine A dans le corps (**Sanders And Emery, 2003**).

➤ **Les polyphénols**

Les polyphénols sont connus par leur activité antioxydant qui est due à la présence d'un nombre important de groupements hydroxyles phénoliques (**Hannan et al., 2012**).

Les propriétés redox de ces composés leur permettent d'agir en tant qu'agents réducteurs, donateurs 27 d'hydrogène et éliminateurs de l'oxygène singulet. Certains montrent des propriétés chélatrices de métaux (**Proestos et al., 2013**) et d'autres peuvent empêcher la production enzymatique des espèces réactives de l'oxygène (ERO) telles que l'inhibition de cyclooxygénase, lipoxygénase et cytochrome P450 (**Ferguson, 2001**), de même, augmenter l'expression des enzymes qui ont une activité antioxydant telles que la glutathion peroxydase, la superoxyde dismutase et la catalase (**Jayasena et al., 2013**).

III.1.5. Le Rôle des antioxydants

Les antioxydants peuvent protéger l'organisme contre les effets néfastes des espèces réactives comme suit :

- ✓ Inhibition de la formation des radicaux libres.
- ✓ Neutralisation des radicaux libres.

- ✓ Amélioration du système de défense du corps.
- ✓ Réparation des dommages résultants de radicaux libres en agissant spécifiquement par chélation des métaux de transition ou agir en synergie avec d'autres antioxydants pour se régénérer (Liochev, 2013).

III.2. Historique de la phytothérapie

L'histoire de la pharmacie et du médicament est indissociable de celle de la phytothérapie et de l'aromathérapie. L'usage des plantes à des fins médicales est une pratique ancestrale et culturelle qui a accompagné toutes les civilisations à travers les âges depuis l'époque néolithique. Le premier texte connu sur la médecine par les plantes a été gravé en caractères cunéiformes sur tablette d'argile par les Sumériens, près de trois mille ans avant notre ère !

Les plantes médicinales ont constitué les premiers médicaments. Herboristes et pharmaciens, anciennement apothicaires, sont traditionnellement les moteurs de leur usage.

Durant ces siècles d'utilisation l'homme a expérimenté par lui-même les vertus et les propriétés des plantes qui l'entouraient, créant progressivement une connaissance botanique et pharmaco gnosique dont la profession se sert encore aujourd'hui.

Le XIXe siècle, qui dessine les contours de la pharmacie moderne, marque une transition : de l'usage de plantes ou de parties de plantes, on glisse progressivement vers un recours croissant à l'extraction et à l'indication de principes actifs d'origine naturelle. C'est à cette époque que des molécules comme la morphine, la colchicine ou la quinine commencent à être isolées et révolutionnent ainsi la médecine. Les pharmaciens, historiquement impliqués dans la gestion et la délivrance des plantes médicinales, ont eu un rôle déterminant dans le développement, la commercialisation et la délivrance de ces produits actifs issus de substances végétales.

Après une régression marquée de leur utilisation au milieu du XXe siècle, liée notamment au développement de la chimie de synthèse, les plantes médicinales connaissent un regain d'intérêt significatif depuis une trentaine d'années : cette tendance est portée à la fois par un retour du grand public vers les médecines naturelles et par un retour renouvelé de la recherche thérapeutique vers l'exploitation des substances d'origine végétale. La flore naturelle reste une source irremplaçable de substances bioactives, à l'origine de nouvelles percées thérapeutiques au service des patients. Ces

dernières années, la demande du grand public pour la médecine naturelle et le recours aux plantes médicinales n'ont cessé de croître (**Les cahiers de l'ordre national des pharmaciens, 2012**).

➤ **Phytothérapie**

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : phuton et therapeia qui signifient respectivement "plante" et "traitement".

La Phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes (**Wichtl et al., 2003**), qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe.

On distingue deux types de phytothérapies :

Tout d'abord se place la phytothérapie traditionnelle. C'est une thérapie de substitution qui a pour but de traiter les symptômes d'une affection. Ses origines peuvent parfois être très anciennes et elle se base sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement (**Prescrire, 2007**). Elles concernent notamment les pathologies saisonnières depuis les troubles psychosomatiques légers jusqu'aux symptômes hépatobiliaires, en passant par les atteintes digestives ou dermatologiques. On peut citer pour exemple les graines de chardonmarie (*Silybummarianum L*) qui sont utilisées pour traiter les troubles fonctionnels digestifs attribués à une origine hépatique.

En effet cette drogue se distingue par ses propriétés hépato protectrice et régénératrice de la cellule hépatique associées à une action cholérétique. Pline l'Ancien (23-79) lui-même recommandait de prendre le jus de la plante mélangé à du miel pour "éliminer les excès de bile" (**Edzard, 2001**).

La seconde forme existante est La phytothérapie moderne dite « clinique », quant à elle, à laquelle on s'intéresse, elle utilise la plante médicinale selon toutes les données issues de la connaissance pharmacologique et certaines données ancestrales confirmées par la pratique clinique, en les réintégrant dans le contexte de nos connaissances scientifiques, médicales et pharmacologiques actuelles, prenant en compte la notion de totum, les mécanismes de synergie et de potentialisation des différents constituants d'une même plante et des plantes entre elles, ainsi que les réactions physiologiques cliniques

qu'elles provoquent sur un individu donné, avec en parallèle la prise en compte du système régulateur de sa fonctionnalité, à savoir le système endocrinien (Carillon, 2009).

III.2.1. La Marjolaine

La famille des Labiées est connue par sa richesse en taxons producteurs des huiles essentielles, terpènes et composés phénoliques. Le genre *Origanum* (*Lamiaceae*) se transige de 43 espèces et 18 hybrides disposés en trois groupes et 10 sections (Krishnakumar *et al.*, 2012). Parmi les espèces de ce genre, il existe quelques plantes considérées comme étant les plus aromatiques dans monde végétale, citons par exemple la marjolaine (*O. majorana* L.), définis par un calice bilabié à lèvre supérieure orbiculaire et à lèvre inférieure \pm bidentée. Epis de l'inflorescence très denses et globuleux un peu laineux cultivé et \pm subsponané. Cette espèce appelée vulgairement 'Merdgouche' se développant dans les zones internes semi arides de l'Est d'Algérie (Quézel *et al.*, 1962). Dans le but de caractériser la qualité des huiles essentielles d'une plante spontanée sous les conditions de culture, on a mené ce travail sur la marjolaine cultivée dans les conditions sahariennes (Neffati, 2008).

III.2.2. Le Genre *Origanum*

Origanum vient de 2 mots grecs, "oros" qui veut dire montagne et "ganos" qui signifie éclat ; ce mot signifierait "ornement des montagnes".

➤ Présentation botanique du genre *Origanum*

- Les tiges

Les portions les plus basses sont en général ligneuses et persistantes. On trouve plusieurs tiges dressées ou ascendantes portant des branches latérales, sur le quart ou la moitié supérieure, de longueur très variable de 10 à 60 cm ; la plupart des tiges portent des poils, au moins à la base dans toutes les espèces ; les poils sont simples, sauf pour *O. dictamnus* (poils ramifiés).

- Les feuilles

Les feuilles sont sessiles, subsessiles ou pétiolées surtout au niveau des nœuds inférieurs ; le pétiole atteint le quart ou la moitié de la dimension du limbe, les poils portés par les feuilles et les tiges sont identiques. Les feuilles peuvent être aussi plus ou moins glabres, dans ce cas elles sont presque toujours glauques car recouvertes par une fine

couche de cire. Les feuilles portent des poches sécrétrices sessiles ou pédonculées. Ces glandes sécrétrices sont aussi présentes sur tiges, bractées, calices et corolles.

- Les inflorescences

Les inflorescences sont portées par chacune des tiges et chacune des branches ; l'aspect en panicule sera fonction du nombre de branches, les bractées sont arrondies, ovales ou lancéolées ; les plus petites ressemblent à des feuilles, les plus grandes sont fines et membraneuses, souvent pourpres ou de couleur jaune-vert. De nombreuses variations sont possibles dans la taille des inflorescences et/ou des bractées ; ce sont ces variations qui permettent entre autres de différencier les sections.

- le calice

Le calice est la partie la plus variable, dans le genre *Origanum* il possède 5 dents plus ou moins soudées ou il est formé par une ou 2 lèvres plus ou moins dentées. La classification en différentes sections fait également intervenir les caractères distinctifs du calice, -généralement la corolle en forme de tube est dressée avec 2 lèvres de 3 à 14 mm, sa couleur est blanche, rose ou pourpre.

- les étamines

Peuvent être de forme et de tailles très différentes et sont adaptées à la pollinisation par les insectes.

- les fruits

Sont des akènes ovoïdes, bruns, mesurant 1 à 5 mm de long et 0,5 mm de large.

Les caractères fondamentaux du genre *Origanum* résumés ci-dessus présentent le plus souvent des variations caractéristiques de chaque section. (Ietswaart, 1980)

III.2.3. *L'Origanum majorana*



Figure 14: *l'Origanum majorana*

III.2.3.1 Nomenclature

Elle est parfois appelée Marjolaine des jardins. Autres noms communs : marjolaine officinale, marjolaine à coquilles (**Dubois et al., 2006**). Selon les langues ; il y a plusieurs noms de la Marjolaine. Parmi eux :

- ✓ Nom allemand : Garten-Majoran
- ✓ Nom français : Marjolaine du jardin
- ✓ Nom italien : Maggiorana
- ✓ Nom Arabe : Merdeqouch ou Merdaqouch selon les magrébines) (**Baba, 2011**), Merdgouch.
- ✓ Nom Anglais : Marjoram
- ✓ Nom Berbère ou Teurgui : Arzema, M'loul (**Beloued, 2009**)

III.2.3.2. Description botanique d'*Origanum majorana*

L'Origanum majorana. L. est caractérisée par des petites fleurs blanches ou mauves, sous forme de calice et des feuilles duveteuses, de forme ovale et de couleur vert gris, poussant par paire et d'hauteur varie jusqu'au 60 cm. C'est une espèce, très proche de l'origan, qui possède des feuilles de 1 à 2 cm de long, opposées, d'un vert grisâtre, de forme ovale entière. Ses fleurs sont petites, blanches ou mauves, disposées en groupes serrés à l'aisselle des feuilles avec deux bractées en forme de cuillère (**Furia, 1971**). Plante d'environ 30 cm de haut, ligneuse à la base, pubescente. Racine pivotante tortueuse plus ou moins ramifiée. Tige à section quadrangulaire, dressée, ramifiée, de coloration rougeâtre. Feuilles simples, opposées, pétiolées, ovales, allongées, à bords lisses, mesurant environ 2 cm de long sur 1 cm de large, recouvertes d'un duvet blanchâtre. Inflorescences en épis globuleux, axillaires et terminaux, groupés par 3.

Fleurs zygomorphes, petites, blanches ou rosées, enveloppées à la base par de larges bractées en forme de coquille. Calice gamosépale, bilabié, à 5 pièces. Corolle gamopétale, à 5 pièces, formant une lèvre supérieure échancrée et une lèvre inférieure trilobée.

Etamines au nombre de 4, dont 2 plus longues, présentant des anthères rougeâtres à lobes écartés. Ovaire formé de 2 carpelles biovulés surmontés d'un style à stigmate bifide (**Burt, 2004**).

III.2.3.3. Position systématique d'*Origanum Majorana*

La Classification taxonomique d'*Origanum Majorana* d'après **Deysson 1967 (Figueredo, 2007)**.

- ✓ Règne : Plantae.
- ✓ Embranchement : Spermaphytes
- ✓ Sous-embranchement : Angiospermes
- ✓ Classe : Dicotylédones
- ✓ Sous-classe : Gamopétales
- ✓ Série : Superovariées tétracycliques
- ✓ Super ordre : Tubiflorales
- ✓ Ordre : Lamiales
- ✓ Famille : Lamiaceae
- ✓ Sous-famille : Népétoïdées
- ✓ Genre : *Origanum*
- ✓ Espèce : *Origanum Majorana*.

III.2.3.4. Composition chimique d'*Origanum Majorana*

L'Origanum majorana contient des coumarines, flavonoïdes, sucre, tannins, stéroïdes et des huiles essentielles (**Sanju et al., 2016**).

III.2.3.5. Principes actifs d'*Origanum majorana L*

Comme de nombreuses plantes aromatiques ou fines herbes, la marjolaine apporterait à l'organisme une quantité non négligeable d'antioxydants, bénéfiques pour préserver le corps des méfaits de certains radicaux libres. Elle contiendrait en effet des composés phénoliques (acides phénols), notamment de l'acide rosmarinique, des flavonoïdes, de l'apigénine, de la lutéoline et de l'acide carnosique) (**Chikhouné, 2007**).

La marjolaine contiendrait également un certain nombre de vitamines, parmi lesquelles la vitamine K, nécessaire à la fabrication des protéines, à la coagulation sanguine et à la formation des os ; du fer, indispensable au transport de l'oxygène dans le sang et à la formation des globules rouges ; du calcium, qui contribue à la formation et à la solidité des os, au maintien de la pression sanguine et la contraction des muscles. En outre, la marjolaine serait une source non négligeable de manganèse, participant à différents processus métaboliques et à la protection contre les radicaux libres. Enfin, la

marjolaine renfermerait de la vitamine E, contribuant ainsi à protéger la membrane entourant les cellules.

La marjolaine contient également une huile essentielle, composée, entre autres, de camphre, d'esters, de bornéol, de sabinène et de terpène. Elle participerait à combattre certaines bactéries, à apaiser le système nerveux, à dilater les artères, à augmenter leur tonus et à vaincre certaines formes de spasmes (Schaal, 2010).

III.2.3.6. Les huiles essentielles d'*Origanum majorana* L

➤ Propriétés

L'huile essentielle de marjolaine est particulièrement riche en terpinéol. Elle a un aspect liquide, limpide, une couleur jaune pâle à foncé et une odeur douce, fine, chaude et délicate Elle est obtenue par distillation de ses sommités fleuries et de ses feuilles. Elle est considérée comme un puissant antispasmodique stomachique, qui calme les spasmes et plus particulièrement ceux de l'estomac et du colon, son action laxative et digestive contribue au bien être digestif et intestinal (Vagi *et al.*, 2005). Elle possède aussi des effets notables sur le système psycho-sensoriel. Elle est utilisée pour atténuer le rôle du système sympathique et pour favoriser l'action relaxante et reposante du système parasympathique (Komaitis, 1992). Vu sa propriété antitoxique, elle sera utilisée en applications locales sur les boutons pour inactiver le venin des insectes, inoculé par piqûre (Vagi, Rapavi *et al.*, 2005).

III.2.3.7. Propriétés thérapeutiques d'*Origanum majorana* L

L'Origanum majorana est une plante très populaire utilisée dans notre région. Elle possède des applications très vastes tant dans le domaine alimentaire que celui de la médecine.

Traditionnellement, les feuilles sont utilisées par voie orale (en tisane ou mastication) dans le traitement symptomatique de diverses pathologies telles que les troubles digestifs et les troubles respiratoires. En effet, les feuilles de cette plante possèdent un effet antalgique par son action sur les récepteurs acide gamma-aminobutyrique (GABA) (Khaki *et al.*, 2011).

De nombreuses études ont montré que *O. majorana* L. est riche en composés phénoliques. De ce fait, cette plante possède une capacité de chélation de radicaux libre élevée et par conséquent une activité anti-oxydante importante (Miron *et al.*, 2011). Il a

été montré que *O. majorana* contient des terpenoïdes représentés par le 4-ol terpènes et le γ terpinène (El-Akhal *et al.*, 2014). Outre son activité antioxydant, *O. majorana* a démontré une activité antimicrobienne importante (Busatta *et al.*, 2008).

D'autres études ont révélé que l'extrait aqueux ainsi que les huiles essentielles de cette plante protégeraient contre les dommages causés au rein et au foie par l'acétate de plomb (El-Ashmawy, 2014).

Une étude menée par (Al-Harbi, 2011) a montré que l'extrait d'*O. Majorana* réduit l'effet secondaire du cyclophosphamide, composé anticancéreux, sans pour autant altérer son effet cytotoxique.

III.2.4. Activité antioxydant de l'extrait de marjolaine

Les extraits de marjolaine contiennent un taux considérable de phénols et d'autres composés aromatiques comme l'alpha-ter pinène, le terpinolène et le thymol ou des acides hydrox cinnamiques et des flavonoïdes. Les acides rosmarinique et caffeique ont été aussi détectés.

Il été établi que l'extrait de marjolaine peut avoir une activité antioxydant dans les lipides. En effet, l'extrait méthanolique de la marjolaine possède une activité antioxydant qui peut dépasser celle du BHT et du BHA à une faible concentration de 200 ppm dans le saindoux à 75°C. Il peut avoir une activité synergique avec d'autres molécules comme l'acide citrique (Soliman *et al.*, 2007).

Les extraits de marjolaine sont aussi utilisés comme additives pour prolonger la vie des produits de poisson durant la congélation et le stockage (Ietswaart, 1980).

Dans d'autres études, les propriétés antioxydants des extraits de marjolaine venant de l'Égypte, (*Origanum majorana L.*) obtenus avec de l'éthanol, de l'hexane, et l'extraction au Co2 supercritique ont été déterminées par la méthode de Rancimat. L'extrait au Co2 supercritique a été le plus efficace et le plus riche en carnesol (Triantaphyllouk *et al.*, 2001).

Partie Expérimentale

Matériel et méthodes

Ce travail de recherche ayant pour objectif d'étudier l'effet protecteur de la marjolaine contre la toxicité aigüe induite par le bisphénol A chez les rats Wistar femelles ; a été effectué dans son intégralité au sein de l'animalerie et du laboratoire de biochimie de l'université 8 mai 1945.

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Les feuilles d'*Origanum majorana* ont été achetées du marché de Guelma. Après tri, les feuilles ont été broyées et conservé dans des flacons pour l'étape de l'extraction méthanolique du principe actif.

1.2. Matériel animal

L'expérimentation est réalisée sur des rats Wistar albinos femelle provenant de l'animalerie de l'université 8 Mai 1945, Guelma. Au début de la période d'acclimatation, ces rattes pesaient entre 140 et 160 grammes, et au moment de l'expérimentation en moyenne de 130 à 170 grammes. Les expérimentations animales ont été menées conformément aux normes éthiques approuvées par la Directive du Conseil de la Communauté européenne (*European Community Council Directive*) du 24 novembre 1986 (86-609 / EEC) et le Décret du 20 octobre 1987 (87-848 / EEC).

1.2.1. Conditions d'adaptation

Les animaux ont été élevés dans des cages en métal, tapissées d'une litière composée de copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées et la litière changée une fois par jour. Ces animaux ont été acclimatés aux conditions de l'animalerie, à une température de 25°C, une hygrométrie et une photopériode naturelles (printemps). La nourriture apportée aux animaux est confectionnée sous forme de bâtonnets constitués de maïs, et d'orge, quant à l'eau de boisson, elle est présentée dans des biberons adaptés aux cages.

1.2.2. Traitement des animaux

Après la période d'adaptation, les rats femelles ont été répartis en 6 lots : **Groupe témoin négatif (n=4)** n'ayant subi aucun traitement pendant la période de l'expérimentation et ayant été injectés intrapéritonéalement (I P) avec 0.1 ml d'éthanol (Véhicule) 24h avant le jour du sacrifice.

Groupe témoin positif (n=5) ayant été injectés intrapéritonéalement (I P) avec la DL₅₀ du BPA 841mg/kg de masse corporelle (mc) (**Pant et Deshpande, 2012**) dissoute dans 0.1 ml d'éthanol 24h avant le jour du sacrifice.

Groupe extrait 200mg/kg de mc (n=3) ayant été oralement supplémentés de 1 ml de l'extrait hydrométhanolique de la marjolaine pendant 10 jours puis sacrifiés.

Groupe extrait 400mg/kg de mc (n=3) ayant été oralement supplémentés de 1 ml de l'extrait hydrométhanolique de la marjolaine pendant 10 jours puis sacrifiés.

Groupe extrait 200mg/kg de mc (n=4) ayant été oralement supplémentés de 1 ml de l'extrait de la marjolaine pendant 10 jours puis injectés intrapéritonéalement (I P) avec du BPA 841mg/kg de mc dissoute dans 0.1 ml d'éthanol 24h avant le jour du sacrifice.

Groupe extrait 200mg/kg de mc (n=4) ayant été oralement supplémentés de 1 ml de l'extrait de la marjolaine pendant 10 jours puis injectés intrapéritonéalement (I P) avec du BPA 841mg/kg de mc dissoute dans 0.1 ml d'éthanol 24h avant le jour du sacrifice

1.2.3 Sacrifice et prélèvement de sang et des organes

Après un sacrifice par décapitation. Une incision abdominale puis thoracique est réalisée (Figure 2). Le foie est isolé et conservé dans le congélateur à -20°C jusqu'au jour de l'homogénéisation. Quelques grammes de tissu (foie) de chaque ratte des différents groupes étudiés, ont été récupérés. Après broyage et homogénéisation des tissus dans le tampon phosphate salin (pH 7.4). Les homogénats des organes sont ensuite utilisés pour le dosage des marqueurs du stress oxydatif (MDA, glutathion réduit), l'activité des transférases de et le dosage de protéine tissulaire (foie).

2. Méthode d'analyse

2.1. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique

La méthode utilisée est celle décrite par **Bruneton (1999)**. Elle est basée sur le degré de solubilité des molécules dans les solvants modifiés. 180 g de la drogue végétale sont mélangés dans 1,5 L de méthanol. L'extraction est réalisée par macération à température ambiante à l'abri de la lumière pendant 72 heures. Après une double filtration sur un papier filtre, le filtrat sont évaporés sous vide à l'aide d'un rotavapeur (BUCHI – zwitterbland) à 45°C puis tous les extraits sont conservés à froid jusqu'à leur utilisation (**Fadili, 2015**).

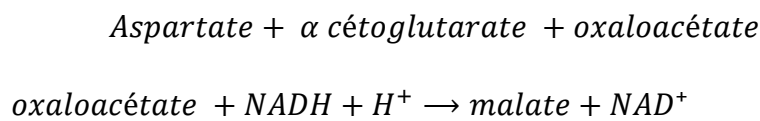
2.2. Dosage de l'activité des transaminases tissulaires (foie)

2.2.1. Dosage de l'Aspartate-amino-transférase (ASAT)

- **Principe**

Aspartateaminotransférase (AST) ou Transaminase Glutamo-oxalo-acétique (TGO) catalyse le transfert réversible d'un groupe amine de l'aspartate à l'acide α -cétoglutarique en formant l'acide glutamique et l'acide oxaloacétique.

L'acide oxaloacétique produit est réduit en Malate par Malate déshydrogénase (MDH) et NADH :



Le taux de diminution de la concentration de NADH, mesuré photométriquement à 340 nm, est proportionnel à la concentration d'ASAT présente dans l'échantillon (Murray *et al.*, 1984). L'activité est calculée par la formule suivante :

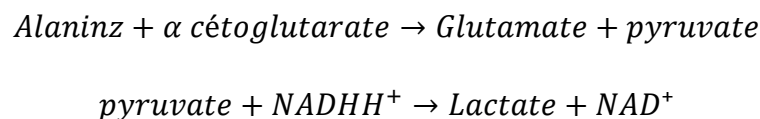
$$\text{U/l d'ASAT} = \Delta A/\text{min} \times 1750$$

2.2.2. Dosage d'Alanine aminotransférase (ALAT)

- **Principe**

Alanine aminotransférase (ALT) ou Transaminase Glutamo-Pyruvique (TGP) catalyse le transfert réversible d'un groupe amine de l'alanine à l'acide α -cétoglutarique en formant l'acide glutamique et l'acide pyruvique.

L'acide pyruvique produit est réduit en acide lactique par Lactate déshydrogénase (LDH) et NADH :



Le taux de diminution de la concentration de NADH, mesuré photométriquement à 340nm, est proportionnel à la concentration d'ALAT présente dans l'échantillon (Murray *et al.*, 1984a). L'activité est calculée par la formule suivante :

$$\text{U/L d'ALT} = \Delta A/\text{min} \times 1750$$

2.3. Dosage des paramètres de stress oxydatif

Après la dissection, le foie ont été prélevés et débarrassés de leurs tissus adipeux puis pesés. Le foie a été stockés au congélateur à -20 °C pour le dosage de protéine et des paramètres de stress oxydant.

2.3.1. Evaluation de la peroxydation lipidique (MDA)

- **Principe**

Le taux du malondialdéhyde (MDA), considéré comme un produit final de la peroxydation lipidique, a été mesuré selon la méthode colorimétrique d'Ohkawa (**Ohkawa et al., 1979**).

- **Mode opératoire**

Le MDA contenu dans 0,5 ml du surnageant réagit avec 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) (0,67 %) en présence de 0,5 ml d'acide trichloroacétique (TCA 20 %). Le mélange réactionnel a été incubé à 100 °C pendant 15 minutes puis refroidi. Le composé rose formé été extrait par addition de 4 ml du n-butanol. La phase organique contenant le complexe formé entre MDA et TBA a été ensuite séparée par centrifugation à 3000 rpm pendant 15 min. Son absorbance a été mesurée à 532 nm (spectrophotomètre UV / visible Jenway 6305). Le taux du MDA dans le tissu hépatique est exprimé en nmole de MDA/g de tissu en utilisant une courbe d'étalonnage réalisé à partir du 1,1, 3,3-tétraéthoxypropane qui lors de son hydrolyse acide libère du MDA.

2.3.2. Dosage du glutathion réduit (GSH)

- **Principe**

La méthode d'Ellman a été adoptée pour l'évaluation du taux du glutathion cytosolique hépatique (**Ellman, 1959**). Elle est basée sur l'oxydation du GSH par le l'acide 5,5-dithio-2-nitrobenzoïque (DTNB) libérant ainsi l'acide 2-nitro 5-mercaptobenzoïque, qui à pH alcalin présente une absorbance à 412 nm.

- **Mode opératoire**

1 ml du tampon Tris (pH 6.9° 0,2 M préparé dans l'EDTA 0.02 M) est ajouté à 0.5mL du surnageant. Puis, 0,025 ml de la solution de DTNB (0.01 M préparée dans du méthanol pur) est ajouté et le volume du mélange est complété à 10 ml par du méthanol. Après agitation et incubation pendant 15 min à température ambiante, le mélange est

centrifugé à 3000 tpm pendant 15 min. La densité optique du surnageant est mesurée par spectrophotomètre à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec de l'EDTA. Le taux du GSH est calculé à partir d'un courbe étalon préparé par le GSH à des concentrations croissantes (de 0,2 à 1 mM). Les résultats sont exprimés par $\mu\text{mole/g}$ de tissu.

2.3.4. Dosage des protéines tissulaire

- **Principe**

La teneur en protéines des échantillons du tissu cardiaque a été déterminée par la méthode de (Bradford, 1976). Cette méthode très sensible et très rapide, est basée sur l'adsorption d'un colorant, le bleu de Coomassie G250 aux protéines.

- **Mode opératoire**

Un volume de 2.5 ml du réactif de Bradford est ajouté à 50 μl de chaque échantillon de surnageant. Après agitation suivie d'une incubation pendant 5 minutes, la densité optique du mélange réactionnel est lue à 590 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec de l'eau distillée.

La concentration en protéines est calculée à partir d'un courbe étalon préparé par l'albumine sérique bovine (BSA) à des concentrations croissantes (de 0,1 à 1 mg/ml). Les résultats sont exprimés par mg/ml.

3. Analyse histopathologique

Pour ce volet d'étude concernant le bisphénol A, des échantillons de foie appartenant aux rats des différents groupes expérimentaux ont été fixés dans du formaldéhyde 10 %, imprégnés puis inclus dans des blocs de paraffine. Après l'étape d'inclusion, des coupes de 5 μm ont été réalisées puis colorées à l'hématoxyline-éosine (H&E). La visualisation des éventuelles lésions affectant le tissu cardiaque a été réalisée en utilisant le microscope optique (Olympus C 41) muni d'un appareil photo intégré (Zoom 6 Méga pixel) permettant la numérisation des images des coupes histologiques agrandies quatre cent fois (400 x). Elle ne pas peut être prêt préparé attente pour ce volet d'étude de la toxicité induit par le bisphénol A.

4. Analyse statistique

Toutes les données ont été exprimées en moyenne \pm E.T., l'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel Graph Pad Prism 6. Les différences entre les groupes ont été analysées à l'aide de l'analyse de variance à un facteur (ANOVA) suivie du post-test de comparaison multiple de Tukey. Pour interpréter statistiquement les différences entre les résultats des paramètres biochimiques un $p < 0,05$ a été considéré comme statistiquement significatif.

Résultat et Discussion

Les problématiques liées à la présence des perturbateurs endocriniens dans l'environnement sont au cœur des préoccupations de la communauté scientifique depuis le début des années 2000. Cette capacité d'altération du fonctionnement des systèmes endocriniens apparaît comme un nouveau modèle de toxicité. Le bisphénol A, un plastifiant connu pour ses effets toxiques sur plusieurs systèmes spécialement sur le système de reproduction en est un exemple.

Testé sur des rongeurs femelles de manière répétée, le BPA entraîne une puberté précoce, des altérations de l'utérus, du vagin et de l'ovaire. Ces effets sont cohérents avec son activité oestrogénique. Des effets sont aussi observés chez les mâles, tels que la diminution de la production de spermatozoïdes et de la fertilité, hypotrophie testiculaire et hypertrophie prostatique (**Anses, 2017**).

En effet, la majorité des études de toxicité du BPA rapportées dans la littérature se sont concentrées sur les effets de ces produits chimiques sur la reproduction (**Aydogan et Barlas, 2006**). Outre ses effets inhérents sur le système endocrinien, le BPA est également connu pour infliger un stress oxydatif en affectant le statut redox dans les organes exposés (**Hasselberg et al., 2004**).

En vue de compléter un précédent travail réalisé par (**Pant et Deshpande, 2012**) dans lequel les chercheurs ont évalué la toxicité aiguë de ce polluant sur des rats Wistar par voie intrapéritonéale et voie intraveineuse. Nous avons penser à tester l'effet protecteur de la marjolaine connu pour ses vertus antioxydantes après une période de gavage de 10 jours suivi par une injection par voie intrapéritonéale de la DL₅₀ estimée a 841mg/kg de masse corporelle du même modèle animal.

1. Effet de la marjolaine sur la peroxydation lipidique induite par le BPA

La formation de l'aldéhyde réactif MDA est une des conséquences de la peroxydation lipidique.

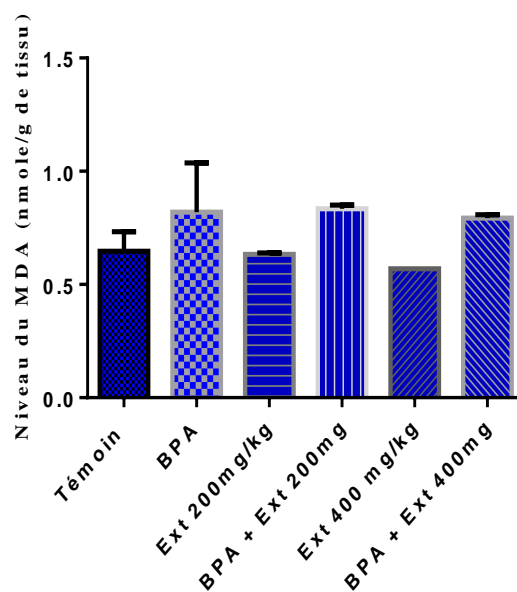


Figure 15: Effet de l'extrait méthanolique de la marjolaine sur la peroxydation lipidique induite par le BPA

D'après nos résultats, la peroxydation lipidique qui s'est produite chez les animaux ayant reçu le BPA entraîne une perte de l'intégrité de la membrane cellulaire et provoque, par conséquent, sa rupture. Au regard des résultats illustrés dans la figure 15, l'oxydation cellulaire a provoqué une augmentation statistiquement non significative du taux du MDA ($0,033 \pm 0,001$ nmole/g de tissu) par rapport au lot témoin ($0,023 \pm 0,001$ nmole/g de tissu) ce qui correspond à une augmentation de la peroxydation lipidique, signe d'une éventuelle hépatotoxicité vue que le foie est l'organe cible de détoxification des xénobiotiques.

Par ailleurs, la supplémentation des rats avec l'extrait de la marjolaine à 200mg/kg et 400mg/kg avant l'induction de la toxicité a donné des taux de MDA $0,8 \pm 0,1$ nmole et $0,75 \pm 0,1$ nmole/g de tissu respectivement proches de ceux obtenus chez le groupe témoin $0,55 \pm 0,1$ nmole/g de tissu.

Ces résultats, et malgré que le traitement statistique a révélé des différences non significatives lors de la comparaison des groupes deux à deux, suggèrent que l'extrait de *Origanum majorana* pourrait d'un effet antioxydant, due à la richesse de cette plante en composés bioactifs tel que les polyphénols et les flavonoïdes.

Dans une étude similaire, **Bindhumol** et collaborateurs (2003) ont étudié l'effet protecteur de l'extrait d'*Asparagus officinalis* (AOE) contre la toxicité induite par le bisphénol A chez les rats de Wistar. Leurs résultats sont concordants aux nôtres où ils ont noté que l'exposition au BPA induisait des dommages au foie et aux reins et que l'extrait de leur plante conférait une protection importante contre les dommages induits par le BPA dans ces organes.

Une autre équipe a démontré que le mécanisme incriminé dans la toxicité du BPA est le stress oxydant, l'appauvrissement cellulaire en réserves antioxydantes conduisant à des lésions tissulaires (**Behmanesh et al., 2018**).

L'augmentation de MDA indique des dommages cellulaires, des lésions de la membrane cellulaire et une lésion endothéliale (**Subermaniamet et al., 2014**) ceci pourrait être consolidé par l'analyse des coupes histopathologiques qui n'ont malheureusement pas pu être réalisées avant la rédaction de ce mémoire.

2. Restauration des taux en marjolaine sur le taux de glutathion réduit

Le glutathion réduit (GSH) est également considéré comme effecteur indispensable dans la protection antioxydante de première ligne grâce à ses multiples fonctions dans la cellule. Il assure le piégeage direct des radicaux libres et des produits de peroxydation lipidique catalysés par les GSH peroxydases. Il protège les groupes thiols des protéines contre l'oxydation (**Shan et al., 1990**). Le glutathion sert également de coenzyme pour certaines enzymes impliquées dans la balance oxydants/antioxydant telles que la GPx et comme substrat pour d'autres telles que les glutathion S transférases (GST).

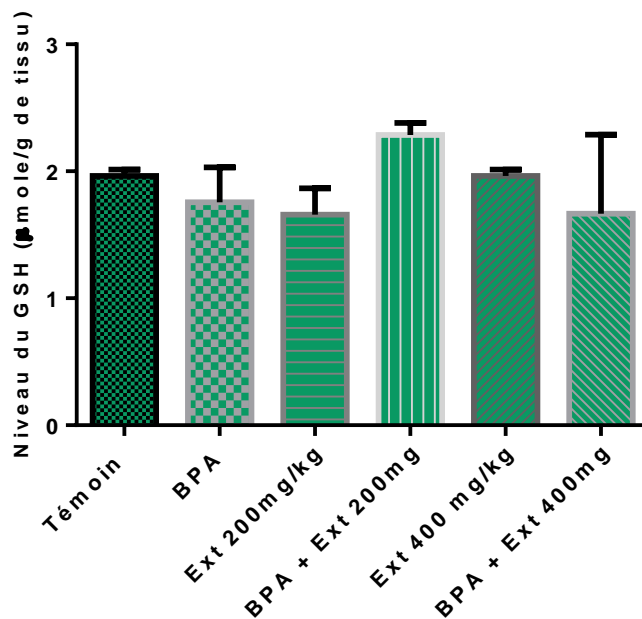


Figure 16: Effet de la supplémentation en marjolaine sur le taux de glutathion réduit

D'après l'analyse statistique des résultats du taux de GSH réduit, il n'existe aucune différence significative en comparant la moyenne des groupes deux à deux. Néanmoins, selon la figure 16 la supplémentation avec les deux doses de marjolaine a provoqué une restauration des niveaux de glutathion réduit $2,3 \pm 0,1$ nmole/g d et $1,7 \pm 0,1$ nmole/g respectivement comparé au taux des rongeurs injectés par la DL_{50} du bisphénol A. Ce qui leur a conféré une protection contre le stress oxydant provoqué.

L'augmentation du taux de GSH pourrait être due à l'effet de la plante sur la synthèse *de novo* de GSH, à sa régénération ou aux deux. Nos résultats suggèrent que la plante étudiée possède une activité antioxydant reposant sur l'élimination des radicaux libres et la restauration de la balance oxydants/antioxydants (Miron *et al.*, 2011)

Par ailleurs, nos résultats de déplétion du GSH réduit chez les animaux intoxiqués par BPA est expliquée par sa consommation tant par son piégeage direct des radicaux libres que par sa réparation des protéines oxydées ou par son implication dans les processus de conjugaison et de détoxification des peroxydes assurés par la GPx et la GS-T. Ces résultats suggèrent que le GSH réduit pourrait constituer une première ligne de défense contre le stress oxydant provoqué par ce mimétique oestrogénique.

3. Variation des niveaux des transaminases (TGP) dans le foie

Majoritairement présentes au sein du foie, les transaminases assurent une fonction métabolique essentielle. Métaboliquement actives au niveau des cellules, ces enzymes peuvent faire l'objet d'un dosage sanguin afin de détecter une éventuelle lésion hépatique, rénale ou encore cardiaque (**Pariente A, 2013**). Dans notre cas, nous avons voulu prouver le contraire en dosant l'ALAT au niveau de l'homogénat hépatique des rongeurs utilisés dans la présente étude.

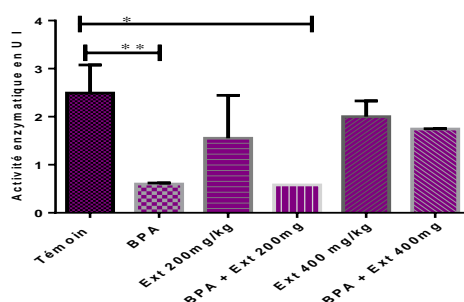


Figure 17: Effet de la supplémentation en marjolaine sur l'activité de l'ALAT du foie

L'étude statistique a révélé qu'il existe des différences hautement significatives entre le groupe contrôle négatif et positif (**Figure 17**) ; confirmant ainsi une lésion hépatique suivi par une fuite et donc diminution du taux de TGP dans le foie et probablement l'augmentation de son taux sérique.

4. Le dosage des protéines tissulaire

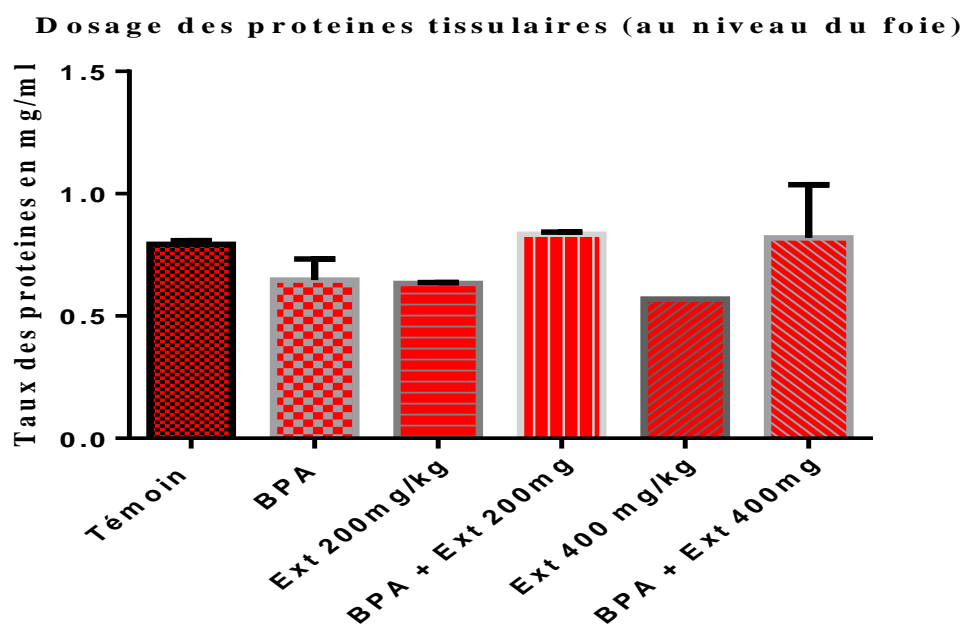


Figure 18: Le dosage des protéines tissulaire

Au regard des résultats illustrés dans la figure 18, le bisphénol A puis l'extrait méthanolique de la marjolaine a provoqué une augmentation significative du taux de la protéine tissulaire au niveau du foie ($0,83 \pm 0,1$ mg/ml de tissu) par rapport au lot témoin ($0,79 \pm 0,1$ mg/ml de tissu) ce qui correspond à une augmentation de la peroxydation lipidique, signe de toxicité.

Par ailleurs, Le traitement par la dose (200mg / kg et 400mg/kg) d'extrait méthanolique de la marjorana montre une diminution significative du taux de la protéine tissulaire ($0,83 \pm 0,1$ mg/ml de tissu), tandis que on a obtenu une diminution de BPA ($0,63 \pm 0,1$ mg/ml de tissu) par rapport le témoin ($0,79 \pm 0,1$ mg/ml de tissu).

Conclusion

Conclusion

Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés sur les extraits aqueux de ces plantes aromatiques des composés chimiques ayant des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes.

Le présent travail a été mené dans le cadre de l'évaluation de l'effet hépatoprotecteur d'*Origanum majorana* sur le stress oxydant induit par l'injection intrapéritonéale de 841mg/kg de pc de rats du bisphénol A chez les rates albinos Wistar.

La rupture de l'intégration des cellules du foie traduite par des niveaux relativement diminués de l'ALAT dans le groupe traité par ce perturbateur endocrinien pourraient être une réponse au stress oxydant provoqué.

La supplémentation pendant 10 jours de l'extrait de la marjolaine comme traitement préventif a diminué le stress oxydatif par une limitation des phénomènes radicalaires et une réparation des dommages en diminuant la peroxydation lipidique au niveau hépatique révélé par les taux du MDA et en améliorant la défense dans l'organe étudié par la restauration des taux de glutathion réduit.

Néanmoins, les résultats obtenus mériteraient une vérification avec une population plus large et un traitement plus long avec l'extrait afin de conclure par rapport à l'éventuel effet hépatoprotecteur de la marjolaine.

Référence Bibliographique

- ✓ **Agence national de sécurité de médicament et des produits de santé., (juillet 2013).** Phtalate et médicaments. P01
- ✓ **Åke Bergman Jerrold, J., Heindel Susan Jobling Karen, A., Kidd, R., Thomas Zoeller., (2012).** les perturbateurs endocriniens. P14.
- ✓ **Al-Harbi, N.O., (2011).** Effect of marjoramextractstreatment on the cytological and biochemical changes induced by cyclophosphamide in mice. *Journal of Medicinal Plants Research.* 5 (23): 5479-5485.
- ✓ **Anses., (2011).** Effets sanitaires du BPA et connaissances relatives aux usages du BPA. Agence nationale de sécurité sanitaire, Maisons-Alfort. Rapport.
- ✓ **Anses, (2019).** Les Cahiers de la Recherche No 13 - Santé, Environnement
- ✓ **Anses., (2017).** The conversation sou licence creative commons. Perturbateurs endocriniens
- ✓ **Azzi, A., (2007).** Oxidative stress: a dead end or a laboratory hypothesis? *Biochem Biophys*
- ✓ **Bardonnet, P., (1992).** Résines époxydes (EP) : Mise en œuvre et applications. *Techniques de l'Ingénieur.*
- ✓ **Beausoleil, C., Emond, C., Cravedi, JP., Antignac, JP., Applanat, M., Appenzeller BMR, et al., (2018).** Regulatory identification of BPA as an endocrine disruptor: Context and methodology. *Mol Cell Endocrinol.*
- ✓ **Bioeng., (2014).** Sprague-Dawley rats fed with heated palm oil 3 (2)
- ✓ **Bliefert, C., Perraud, R., (2004).** Chimie de l'environnement : Air, eau, sols, déchets. Boeck Université. pp. 373-374.
- ✓ **Bonnefont-Rousselot, D., Thérond, P., Delattre, J., (2003).** Radicaux libres et antioxydants. En : **Delattre, J., Durand, G., Jardillier, J-C.** *Biochimie pathologique.* Flammarion, Paris, 317 p
- ✓ **Bradford, M., (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, 1976. *Anal Biochem* 7, 248–254.
- ✓ **Brignon, J.M., (2017).** Octylphénols et éthoxylates. www.ineris.fr/substances/fr/substance/getDocument/2607, 2017, pp. 1-35.
- ✓ **Bruneton, J., (1999).** Pharmacognosie, phytochimie. *Plantes médicinales.* Ed. Technique et Documentation. 3^{ème} Ed. Paris. France. 1120p

- ✓ **Busatta, C., Vidal, R.S., Popiolski, A., Mossi, A.J., Dariva, C., Rodrigues, M.R.A., Cansian, R.L., (2008).** Application of *Origanum majorana L.* essential oil as an antimicrobial agent in sausage. *Food Microbiology*. 25(1) : 207-211.
- ✓ **CA Frye., (2011).** Perturbateurs endocriniens : examen de certaines sources, effets et mécanismes d'action sur le comportement et les systèmes neuroendocriniens. *J of Neuroendocrinology* ; 24 : 144-159.
- ✓ **Centers for Disease Control and Prevention, (2010)** «Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. » Atlanta, GA : Centers for Disease Control & Prevention,
- ✓ **Chickoune, A., (2007).** Huiles essentielles de thym et d'Origan étude de composition de l'activité antioxydant antimicrobienne, mémoire de magister. Institut nationale agronomique El Harrach- Alger.
- ✓ **Dipali, S., Shiv Kumar, J., Kamakshi, S., Kratika, N., (2016).** *Origanum majorana*: a potential herb for functional food *European journal of pharmaceutical and medical research*, (3)2, 321-325p.
- ✓ **Desbiolle, A et Gaillot, J., (2019).** (Département prévention, Pôle Santé publique et soins). Perturbateurs endocriniens. P03/04
- ✓ **ECSC, (2008).** Évaluation préalable finale pour le Défi concernant le Phénol, 4,4'
- ✓ **Eddouks, M., Ouahidi, M.L., Farid, O., et al., (2007).** L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie* 5, 194–203
- ✓ **Edzard, E., (2001).** The desktop guide to complementary and alternative medicine, 2ème édition, Grande-Bretagne, Ed. Mosby.
- ✓ **El-Akhal, F., Lalami, A.E.O., Zoubi, Y. E., Greche, H., Guemmouh, R., (2014).** Chemical composition and larvicidal activity of essential oil of *Origanum majorana* (Lamiaceae) cultivated in Morocco against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 4(9): 746-750.
- ✓ **El-Ashmawy IM., Ashry, KM., El-Nahas, AF., Salama OM., (2014).** Protection by turmeric and myrrh against liver oxidative damage and genotoxicity induced by lead acetate in mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 98(1):32-7.
- ✓ **Ellman, G.L., (1959).** Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys*. 82, 70–77.

- ✓ **Farnsworth, Norman, R., Akerele, Olayiwola, Bingel, Audrey, S., Soejarto, Djaja, D & Zhengang, Guo., (1985).** Medicinal plants in therapy*. Bulletin of the World Health Organization, 63 (6), 965 – 981
- ✓ **Fadili, K ., Zerkani H., Amalich, S., et Zair, T., (2015).** ETUDE Phytochimique et evaluation de l'activité antioxydante des feuilles et des fruits du Capparis spinosa L. American Journal of Innovative Research and Applied Sciences; 5(2):108-118.
- ✓ **Fathy AM., Soliman, Miriam, F., Yousif, Soumaya, S., Zaghloul., (2009).** seasonal variation in the essential oil composition of origanum majorana l. cultivated in Egypt, naturforsch., (64), 611 – 614p.
- ✓ **Favier A., (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'Actualité chimique. pp. 108-117.
- ✓ **Ferguson L., R., (2001).** Rôle of plant polyphenols in genomic stability. Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 475, 89–111.
- ✓ **Figueredo G., (2007).** Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse doctorat. Université Blaise Pascal.
- ✓ **Fouché, J.G., Marquet, A., Hambuckers, A., (2000).** les plantes au médicament observation du monde des plantes. Sart-tiliman
- ✓ **Fransway, A., F., Fransway, P.J., Belsito, Warshaw, D.V., Sasseville, D., Fowler, J.F., Jr., Reeder, M J., (2019).** Parabens. Dermatitis, 30(1), 3-31.doi: 10.1097/DER.0000000000000429 Free Radical Biology and Medicine 60,1-4.
- ✓ **Gardés Albert, M., Bonnefont Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D., (2003).** Espèces réactives de l'oxygène : comment l'oxygène peut-il devenir toxique. Actualité Chimique : 91-96.
- ✓ **Gauthier, K., (2010),** Évaluation De L'efficacité Des Mesures Du Gouvernement Fédéral Visant À Réduire Le Nonylphénol Et Ses Dérivés Ethoxylés, Essai, Canada, Sherbrooke, 95 p.
- ✓ **Ge, M., O'Reilly A., Baillie, N., Twentyman, G., Sturt, J., Fitzpatrick, M., Taylor, T., (2008).** Vitamin C : Evidence, application and commentary. Original Scientific Paper 35(5), 312-318.

- ✓ **Gibert, Y., Sassi Messai, S., Fini, J.B., Bernard, L., Zalko, D., Cravedi, J.P et al., (2011).** Bisphenol A induces otolith malformations during vertebrate embryogenesis. *BMC Developmental Biology*.11 (1): 4.
- ✓ **Ginsberg, G., Rice, D.C., (2009).** Does rapid metabolism ensure negligible risk from bisphenol A? *Environ. Health Perspect* ;117(11):1639-1643.
- ✓ **Gould, J.C., Leonard, L.S., Maness, S.C., Wagner, B.L., Conner, K., Zacharewski, T., et al., (1998).** Bisphenol A interacts with the estrogen receptor h in a distinct manner from estradiol. *Molecular and Cellular Endocrinology*.12.
- ✓ **Halliwell, B., (2006).** Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *Journal of Neurochemistry*. Department of Biochemistry, Yong Loo Lin School of Medicine, National University of Singapore, Singapore.
- ✓ **Hannan, A., Karan, S., & Chatterjee, T.K.A., (2012).** Comparative Study Of In-Vitro Antioxidant Activity Of Different Extracts Of Areca Seed Collected From Areca Catechu Plant Grown In Assam. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 4(2), 420-427.
- ✓ **Hasselberg, L., Meier, S., and Svardal, A., (2004):** Effects of alkylphenols on redox status in first spawning Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquat. Toxicol.* 69, 95–105.
- ✓ **Hilan, C., Sfeir, R., Aitour, R.S., (2011).** Chimiotypes de plantes communes au liban du genre *origanum* et du genre *micromeria* (lamiaceae) ,lebanese science journal, (12)1, 79-91p
- ✓ **Huang, Ri ping., (2018)** «Bisphenol A concentrations in human urine, human intakes across six continents, and annual trends of average intakes in adult and child populations worldwide: A th_: Bisphenol A. Institut national de l'environnement industriel et des risques.)
- ✓ **Ietswaart, J.H.A., (1980).** Taxonomic Revision of the genus *Origanum* (Labiatae), Leiden Botanical Series, Vol 4, Leiden University Press, The Hague, Netherlands.
- ✓ **INERIS, (2010).** Données technico-économiques sur les substances chimiques en France
- ✓ **INRS, (2002).** Dermatoses professionnelles aux résines époxy. Documents pour le médecin du travailorough literature review. » *Science of the Total Environment*, (2018) : 626 (971–981).

- ✓ **J., (2013).** Vitamin C prevents the stress-induced damages on the heart caused by the death of cardiomyocytes, through the down-regulation of the excessive production of catecholamine, TNF- α and ROS production in Gulo (-/-) Vit C-Insufficient. *Free radical biology and medicine*. J. freeradbiomed 10,1016.
- ✓ **J., (2013).**Antioxidant capacity of selected plant extracts and their essential oils. *Antioxidants* 2, 11-22.
- ✓ **Jayasena, T., Poljakb, A., Smytheb, G., Braidya, N., Münchd, G., & Sachdeva, P., (2013).** The role of polyphenols in the modulation of sirtuins and other pathways involved in Alzheimer's disease. *Ageing Research. Reviews*.
- ✓ **John, E., Morley, MB., BCh, Saint Louis., (2019)** University School of Medicine Dernière révision totale | Dernière modification du contenu.
- ✓ **Julian, B., (2008).** Métabolisme du bisphénol A, de la vinchlozoline et de la génistéine dans les systèmes biologiques utilisés pour étudier les perturbateurs endocriniens : conséquences en termes de toxicité. P :168.
- ✓ **Jullian, C., Mercan, A., et Mezei, I., (2008).** Une ethnobotanique des massifs des bauges et de Chartreuse : préserver et valoriser un patrimoine culturel et naturel. Compte-rendu de la réunion de présentation du projet. Maison des Parcs _Chambéry.9p
- ✓ **Kahouli, I., (2010).** Effet antioxydant & extraits de plantes (*Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, *Oléa Europea* L.) dans l &39; huile de canola chauffée., mémoire de magister. Université Laval.
- ✓ **Kambouche, N., Merah, B., Derdour, A., et al., (2009).** Étude de l'effet antidiabétique des saponines extraites d'*Anabasis articulata* (Forssk) Moq, plante utilisée traditionnellement en Algérie. *Phytothérapie* 7, 197–201.
- ✓ **Kang, J.H et F., Kondo., (2005).** "Bisphenol A degradation in seawater is different from that in river water." *Chemosphere* **60**(9): 1288-1292.
- ✓ **Khaki, M.R.A., Pahlavanb, Y., Sepehrib, G., Sheibanib, V., Pahlavanc, B., (2013).** Antinociceptive Effect of Aqueous Extract of *Origanum vulgare* L. in Male Rats : Possible Involvement of the GABAergic System. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 12(2):407-413
- ✓ **Kourouma, A., Peng, D., Chao, Q., Changjiang, L., Chengmin, W., Wenjuan, F., et al., (2014)** Bisphenol A induced reactive oxygen species (ROS) in the liver and affect epididymal semen quality in adults Sprague-Dawley rats, *J. Toxicol. Environ. Health Sci.* 6 (4) 103–112.

- ✓ **Kovacic, P., (2010).** How safe is bisphenol A? Fundamentals of toxicity: metabolism, electron transfer and oxidative stress. *Med. Hypotheses.*;75(1):1-4.
- ✓ **Krishnakumar, and S.N., Potty., (2012).** Handbook of herbs and spices Central Plantation Crops Research Institute, (ICAR), India. Pp: 336-365.
- ✓ **Kubwabo, C., Kosarac, I., Stewart, B., Gauthier, BR., Lalonde, K., Lalonde, P.J., (2009).** Migration of bisphenol A from plastic baby bottles, baby bottle liners and reusable polycarbonate drinking bottles. *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment* 26(6):928-37.
- ✓ **Lamina, S., Ezema, C.I., Theresa, A.I. & Anthonia, E.U., (2013).** Effects of free radicals and antioxidants on exercise performance. *Oxidants and Antioxidants in Medical Science* 2(2), 839.
- ✓ **Lehout, R., Laib, M., (2015).** Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale
- ✓ **Les cahiers de l'ordre national des pharmaciens, (2012).** Les pharmaciens et les plantes, en France. P11/12.
- ✓ **Liochev, S.I., (2013).** Reactive oxygen species and the free radical theory of aging.
- ✓ **Loft S., Møller P., Cooke M S., Rozalski R., & Olinski R., (2008).** Antioxidant vitamins and cancer risk: is oxidative damage to DNA a relevant biomarker (2):19- 28.
- ✓ **Maia J., Cruz JM., Sendón R., Bustos J., Sanchez, J J., Paseiro, P., (2009).** Effect of detergents in the release of bisphenol A from polycarbonate baby bottles. *Food Research International.* déc;42(10):1410-4.
- ✓ **Manea, A., (2010).** NADPH oxidase-derived reactive oxygen species: involvement in vascular physiology and pathology. *Cell Tissue Res*, 342; 325–39.
- ✓ méthyléthylidène) bis (Bisphénol-A) Environnement Canada. Santé Canada.
- ✓ **Miron, T L., Plaza, M., Bahrim, G., Ibáñez, E., Herrero, M., (2011).** Chemical composition of bioactive pressurized extracts of Romanian aromatic plants *Journal of Chromatography A.*1218(30) : 4918-4927.
- ✓ **Mohammad amin Behmanesh, H., N, Seyyedeh Mahsa Poormoosavi, (2018)** Protective effect of Aloe Vera extract against Bisphenol A- induced testicular toxicity in Wistar rats, *Cell J.* 20 (2)
- ✓ **MOS, (2002).** le Rapport sur la santé dans le monde Nielsen, Mikkelsen, Nielsen, Andersen, Grandjean., (1997). Plasma malondialdehyde as biomarker for

- oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors, *Clin. Chem.* 43 (7) 1209–1214.
- ✓ **Multigner, (2007).** Les perturbateurs endocriniens
 - ✓ **Murray, R.L., (1984).** Alanine aminotransferase. In *Clinical Chemistry. Theory, Analysis and Correlation.* Kaplan L.A., Pesce A.J. (Ed.) CV Mosby Company St Louis; 1088-1090.
 - ✓ **Murray, R.L., (1984).** Aspartate aminotransferase. In *Clinical Chemistry. Theory, Analysis and Correlation.* Kaplan L.A., Pesce A.J. (Ed.) CV Mosby Company St Louis; 1112-1116
 - ✓ **Neffati, M., Marzouk, B., (2008).** Changes in essential oil and fatty acid composition in coriander (*Coriandrum sativum* L.) leaves under saline conditions. *Ind Crops Prod.* 28 :137–142.
 - ✓ **Nishikawa, M., Iwano, H., Yanagisawa R., Koike N., Inoue H., Yokota H., (2010 Sep).** Placental Transfer of Conjugated Bisphenol A and Subsequent Reactivation in the Rat Fetus. *Environ Health Perspect* ;118(9):1196 1203.
 - ✓ **Nowak, K., Ratajczak-Wrona, W., Gorska, M., Jablonska, E., (2018).** Parabens and their effects on the endocrine system. *Mol Cell Endocrinol*, 474, 238-251.doi: 10.1016/j.mce.2018.03.014
 - ✓ **Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi K., (1979).** Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric reaction. *Anal. Biochem.* 95, 351–358.
 - ✓ **Organisation mondiale de la santé, (2002).** les perturbateurs endocriniens.
 - ✓ **Pant, J., Deshpande, S B., (2012).** Department of Physiology, Institute of Medical Sciences, Banaras Hindu University, Varanasi 22 1005, India Received
 - ✓ **Pari, Moyse., (1971).**
 - ✓ **Paristech., (2019).** Mode d'action des perturbateurs endocriniens. Paristech. [En ligne]
 - ✓ **Patrick Fénichel (Inserm, U895, CHU Nice), Claire Philippat (Inserm U823, Université de Grenoble), (2020).**
 - ✓ **Pariante A., (2013)** Cytolyse hépatique (augmentation des aminotransférases) chez l'adulte. *Hépatogastro .p* : 630-639.
 - ✓ **Planchon, P., (2014).** Les perturbateurs endocriniens dans les produits de santé.
 - ✓ **Prescrire., (2007).** Bien utiliser les plantes en situations de soins, numéro spécial été 2007, T. 27, n° 286. 12 :30 min 29/03/2022

- ✓ **Quézel, amp, Santa, Tome 2., (1962).**Nouvelle flore d&# 39 ; Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris, CNRS, 1170 p.
- ✓ **Rajesh, K., Swamy, A H M., Inamdar S S., Joshi V., & Kurnool A N., (2013).** Hepatoprotective and antioxidant activity of ethanol extract of menthaarvensis leaves against carbon tetrachloride induced hepatic damage in rats. International Journal of Pharm Tech Research 5(2), 426-430.
- ✓ **Reed, CE., Fenton, SE., (2013).** Exposure to Diethylstilbestrol during Sensitive Life Stages: A legacy of heritable health effects. Birth Defects Res Part C Embryo Today Rev[Internet].[cité2018Apr 14];99(2).Availablefrom: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3817964/> Res Commun, 362; 230-2.
- ✓ **Roberts, RA., Smith, RA., Safe, S., et al., (2010).** Toxicological and pathophysiological roles of reactive oxygen and nitrogen species. Toxicolog, 276; 285-94.
- ✓ **Sanju, B., Sanju, D., Pinder., (2016).** Phytochemical analysis, phenolic compounds, condensed tannin content and antioxidant potential in Marwa (*Origanum majorana*) seed extracts., 2(4),168-174p.
- ✓ **Sanders, T., & Emery, P., (2003).** Molecular basis of human nutrition. Taylor & Francis (7), 107.
- ✓ **Sarkar B., (2002).** Heavy metals in the environment. pp. 231-234/457-458.
- ✓ **Savini, I., Catani, M V., Evangelista D., Gasperi V., Avigliano L., (2013).** Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state. Int. J. Mol. Sci 14, 10497-10538.
- ✓ **Schaal, S., (2010).** Les plantes médicinales des pelouses calcaires de la réserve naturelle de Montenach (57), Thèse doctorat, Université Henri Poincare – Nancy 1.
- ✓ **Soares, A., (2008).** Nonylphenol in the environment: A critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters.
- ✓ **Soliman, F M., Miriam, F., Yousif, Soumaya, S., Zaghloul., (2009).** seasonal variation in the essential oil composition of *origanum majorana* l. cultivated in Egypt, naturforsch, (64), 611 – 614p.
- ✓ **Tian, C., J-t. Wang et al., (2009).** "Sediment-Water Interactions of Bisphenol A Under Simulated Marine Conditions." Water Air Soil Pollut **199**: 301-310.

- ✓ **Triantaphyllouk , Blekas G., & Boskou D., (2001).** Antioxidative properties of water extracts obtained from herbs of the species Lamiaceae. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 52(4), 313-317.
- ✓ **Union Européenne, (2011).** http://ec.europa.eu/research/endocrine/index_en.html
- ✓ **Völkel, W., Colnot, T., Csanády, G.A., Filser, J.G., Dekant, W., (2002).** Metabolism and kinetics of bisphenol a in humans at low doses following oral administration. *Chem. Res. Toxicol.* ;15(10):1281-1287.
- ✓ **Vandenberg, LN., Hauser, R., Marcus, M., Olea, N., Welshons, WV., (2007)** Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reproductive Toxicology.* 24(2):139-177.
- ✓ **Wichtl, M., (2003).** Anton R. *Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*, 2ème édition, Ed. TEC & DOC.
- ✓ **WWF, (2011).** *Perturbateurs endocriniens et biodiversité, la diversité biologique face au risque chimique : nécessité d'un changement de paradigme.*

- ✓ (01). https://solidarites.sante.gouv.fr/IMG/pdf/rapport_preliminaire_sur_les_perturbateurs_endocriniens_relatif_aux_effets_du_bisphenol_A_sur_la_reproduction.pdf . (02/06/2010) consulté le mercredi 23 février 2022, 20:47 min .
- ✓ (02). https://www.researchgate.net/figure/Structural-formula-of-bisphenol-A_fig1_264397578(2014) consulté le le mercredi 23 février 2022 , 23 :15 min
- ✓ (03). <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-nutrition/2563260-bisphenol-a-difinition-risque-danger-reglementation-remplacement/>
- ✓ (04). Modulateurs sélectifs des récepteurs aux œstrogènes : SERM et SERD [Internet]. [cité 30 oct 2020]. Disponible sur : <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/modulateurs-selectifs-des-recepteurs-aux-oestrogenes-serm-et-serd/>
- ✓ (05). **Bisphénol A** : relation structure-fonction [Internet]. [cité 31 juill 2020]. Disponible sur : http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/222/Chapitre_30.html?sequence=1556&isAllowed=y

Annexes

1. Réactifs et produits utilisés

Chlorure d'hydrogène (HCl) , méthanol, éthanol, tampon Tris, tampon phosphate, chlorure de sodium (NaCl), chlorure de potassium (KCl), acide salicylique, bleu de Coomassie, acide trichloroacétique (TCA), Butylhydroxytoluène (BHT), 5,5'dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB), GSH, le formol, l'eau distillé, le bisphénol A ,Acide Orthophosphorique. Réactif de Bradford (BBC)

Réactif de l'aspartate-amino-transférase (ASAT ou TGO), réactif de l'alanine-amino-transférase (ALAT ou TGP).

2. Matériels de laboratoires

- Rota vapeur BUCHI – zwitserbland
- Centrifugeuse horizontale de type SIGMA.
- Spectrophotométrie à transmission moléculaire de type SP- UV 2005.
- Homogénéisateur de type IKA T18 basic.
- Bain-marie de type MEMMERT.
- Balance électrique de type KERN EMB 2200-O
- Agitateurs magnétiques à plaque chauffante.
- Micropipette, spatule, seringue, papier filtre
- Boites de conservations
- Verreries (bucher, erlenmeyer, cristallisoir, éprouvette, tubes à essai, tubes sec, pipette graduée, cuve en quartz).

3. Les courbes d'étalonnages

A / Courbe d'étalonnages du glutathion GSH

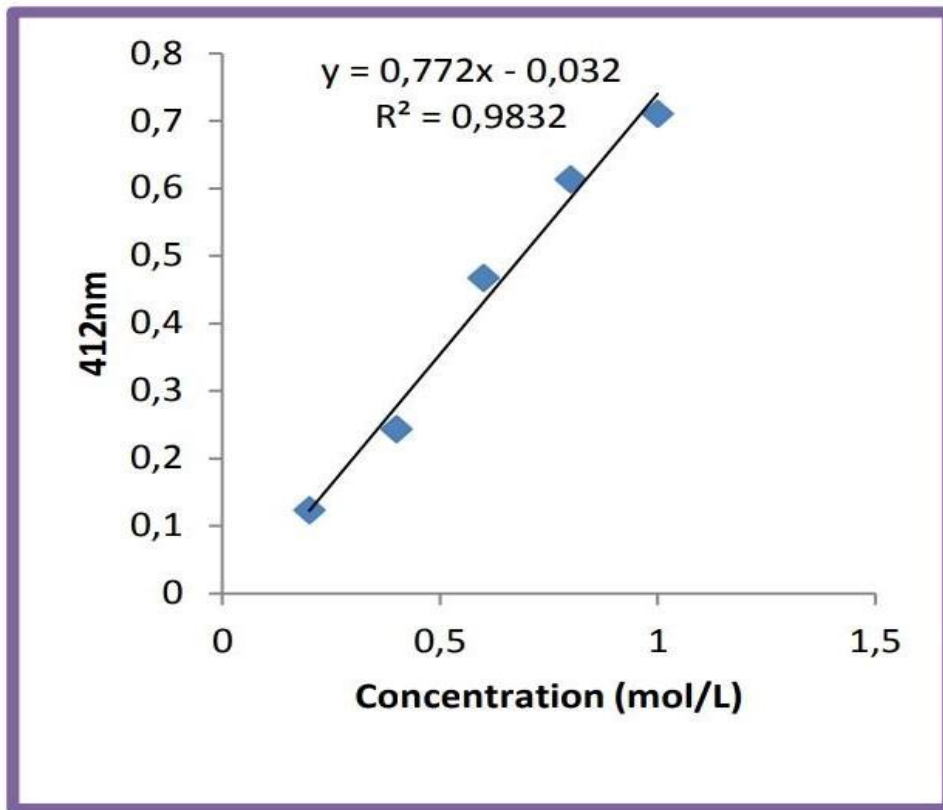


Figure 01 : Droite d'étalonnages du GSH

B / Courbe d'étalonnages de la protéine tissulaire

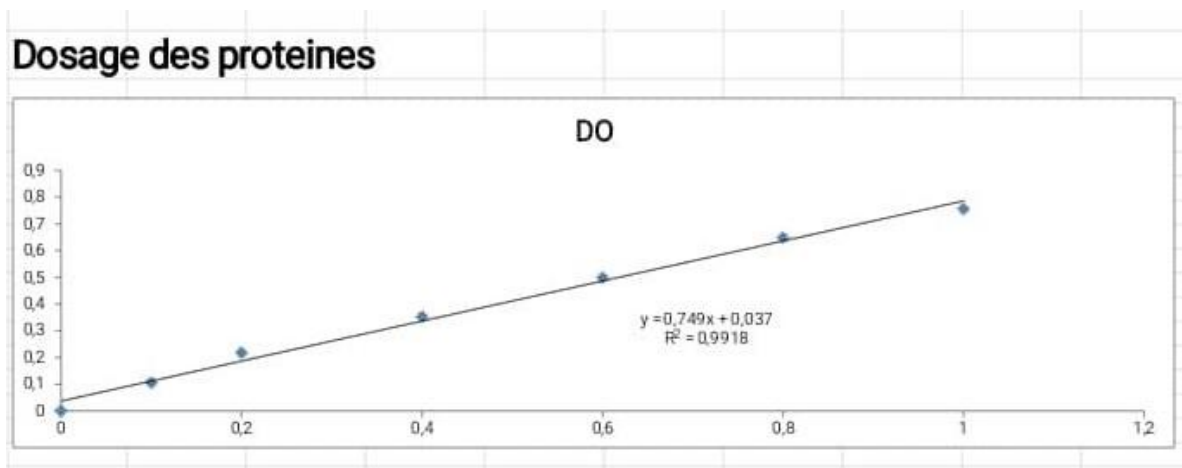


Figure 02 : Droite d'étalonnages de la protéine tissulaire

Test des significations

| Number of famlles | | | | | | | | |
|---------------------------------------|-----------|-------------------|--------------|------------|----|----|---|----|
| Number of comparisons par family | 15 | | | | | | | |
| Alpha | 0,05 | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| Tukey's multiple comparisons test | mean diff | 95% CI of diff | significant? | summary | | | | |
| témoin vs BPA | 0,4467 | -0,8032 to 1,697 | no | ns | | | | |
| témoin vs 200 mg/kg | 1,4 | 0,1501 to 2,650 | yes | * | | | | |
| témoin vs BPA + ext 200mg | 0,2567 | -0,9932 to 1,507 | no | ns | | | | |
| témoin vs ext 400 mg/kg | -1,493 | -2,743 to -0,2434 | yes | * | | | | |
| témoin vs BPA + ext 400 mg | 1,42 | 0,17001 to 2,670 | yes | * | | | | |
| BPA vs ext 200mg /kg | 0,9533 | -0,2966 to 2,203 | no | ns | | | | |
| BPA vs BPA+ ext 200mg/kg | -0,19 | -1,440 to 1,060 | no | ns | | | | |
| BPA vs ext 400mg/kg | -1,94 | -3,190 to -0,6901 | yes | ** | | | | |
| BPA vs BPA+ ext 400mg/kg | 0,9733 | -0,2766 to 2,223 | no | ns | | | | |
| ext 200 mg/kg vs BPA +ext 200 mg | -1,143 | -2,393 to 0,1066 | no | ns | | | | |
| ext 200 mg/kg vs ext 400 mg/kg | -2,893 | -4,143 to -1,463 | yes | **** | | | | |
| ext 200 mg/kg vs BPA +ext 400 mg | 0,02 | -1,230 to 1,270 | no | ns | | | | |
| BPA + ext 200 mg vs ext 400mg/kg | -1,75 | -3,000 to -0,5001 | yes | ** | | | | |
| BPA + ext 200 mg vs BPA+ ext 400mg/kg | 1,163 | -0,08656 to 2,413 | no | ns | | | | |
| Ext 400 mg/kg vs BPA+ext 400mg | 2,913 | 1,663 to 4,163 | yes | **** | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| Test details | mean 1 | mean 2 | mean diff | SE of diff | n1 | n2 | q | DF |

Tableau 01 : signification de TGP

| Numéro de famille 1 | | | | |
|--|-----------|-------------------|----------------|------------|
| numéro de comparaison per family | 15 | | | |
| Alpha | 0,05 | | | |
| | | | | |
| turky's multiple cpmparation test | Mean Diff | 95% CI of Deff | signification? | Summary |
| témoin vs, BPA | -0,2067 | -1,014 to 0,6011 | No | ns |
| témoin vs, ext 200mg/kg | -0,5300 | -1,338 to | No | ns |
| témoin vs , BPA + ext 200mg | 0,09667 | -0,7111 to 0,9044 | No | ns |
| témoin vs , ext 400 mg/kg | 0,09 | -0,7177 to 0,8977 | No | ns |
| témoin vs , BPA + ext 400 mg/kg | -0,2067 | -1,014 to 0,6011 | No | ns |
| BPA vs , ext 200 mg/kg | -0,3233 | -1,131 to 0,4844 | No | ns |
| BPA vs , BPA + ext 200 mg/kg | 0,33033 | -0,5044 to 1,111 | No | ns |
| BPA vs , ext 400 mg /kg | 0,2967 | -0,5111 to 1,104 | No | ns |
| BPA vs , BPA + ext 400 mg/kg | 0 | -0,8077 to 0,8077 | No | ns |
| ext 200 mg/kg vs , BPA + ext 200 mg | 0,6267 | -0,1811 to 1,434 | No | ns |
| ext 200 mg/kg vs , ext 400 mg /kg | 0,62 | -0,1877 to 1,428 | No | ns |
| ext 200 mg vs , BPA + ext 400 mg/kg | 0,3233 | -0,4844 to 1,131 | No | ns |
| BPA + ext 200 mg vs , ext 400 mg/kg | -0,006667 | -0,8144 to 0,8011 | No | ns |
| BPA + ext 200 mg vs , BPA + ext 400mg | -0,3033 | -1,111 to 0,5044 | No | ns |
| ext 400 mg /kg vs , BPA + ext 400 mg | -0,2967 | -1,104 to 0,5111 | No | ns |
| test détails | Mean 1 | Mean 2 | Mean Diff | SE of diff |

Tableau 02 : signification de GSH

| Alpha | 0,05 | | | | | | | | |
|--|------------------|-----------------------|--|---------------------|-------------------|-----------|-----------|----------|-----------|
| Tukey's multiple comparisons Test | | | | | | | | | |
| | Mean diff | | | | | | | | |
| | | 95% CI of diff | | Significant? | Summary | | | | |
| temoin vs BPA | 0,1467 | -0,1155 to 0,4088 | | no | ns | | | | |
| temoin vs ext 200mg/kg | 0,16 | -0,1022 to 0,4222 | | no | ns | | | | |
| temoin vs BPA+ext 200mg | -0,04167 | -0,3038 to 0,2205 | | no | ns | | | | |
| temoin vs ext 400mg/kg | 0,2233 | -0,03883 to 0,4855 | | no | ns | | | | |
| temoin vs BPA+ ext 400mg | -0,02667 | -0,2888 to 0,2355 | | no | ns | | | | |
| BPA vs ext 200mg/kg | 0,01333 | -0,2488 to 0,2755 | | no | ns | | | | |
| BPA vs BPA+ext 200mg | -0,1883 | -0,4505 to 0,07383 | | no | ns | | | | |
| BPA vs ext 400mg/kg | 0,07667 | -0,1855 to 0,3388 | | no | ns | | | | |
| BPA vs eBPA+ ext 400mg | -0,1733 | -0,4355 to 0,08883 | | no | ns | | | | |
| Ext 200mg/kg vs BPA+ ext 200mg | -0,2017 | -0,4638 to 0,06049 | | no | ns | | | | |
| Ext 200mg/kg vs ext 400mg/kg | 0,06333 | -0,1988 to 0,3255 | | no | ns | | | | |
| Ext 200mg/kg vs BPA+ ext 400mg | -0,1867 | -0,4488 to 0,07549 | | no | ns | | | | |
| BPA+ ext 200mg vs ext 400 mg/kg | 0,265 | -0,002839 to 0,5272 | | yes | * | | | | |
| BPA+ ext 200mg vs BPA+ ext 400mg | 0,015 | -0,2472 to 0,2772 | | no | ns | | | | |
| Ext 400mg/kg vs BPA + ext 400mg | -0,25 | 0,5122 to 0,01216 | | no | ns | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| Test details | Mean 1 | Mean 2 | | Mean Diff | SE of diff | n1 | n2 | q | DF |
| Témoïn vs BPA | 0,7933 | 0,6467 | | 0,1467 | 0,07805 | 3 | 3 | 2,658 | 12 |

Tableau 03 : signification de la protéine tissulaire

| Témoïn vs BPA | 0,1467 | -0,1155to0,4088 | No | ns | | |
|-------------------------------------|---------------|------------------------|------------|------------|----|----|
| Témoïn vs,Ext 200mg/kg | 0,16 | -0,1022to0,4222 | No | ns | | |
| Témoïn vs ,BPA +Ext 200mg/kg | -0,04167 | -0,3038to0,2205 | No | ns | | |
| Témoïn vs,Ext 400mg/kg | 0,2233 | -0,3883to0,2205 | No | ns | | |
| Témoïn vs ,BPA+Ext400mg/kg | -0,02667 | -0,2888to0,2355 | No | ns | | |
| BPA vs ,Ext 200mg/kg | 0,01333 | -0,2488to0,2755 | No | ns | | |
| BPA vs ,BPA + EXT 400mg/kg | -0,1883 | -0,4505to0,07383 | No | ns | | |
| BPA vs ,Ext 400mg/kg | 0,07667 | -0,1855to0,3388 | No | ns | | |
| BPA vs ,BPA+Ext 400mg/kg | -0,1733 | -0,4355to0,08883 | No | ns | | |
| Ext 200mg/kg vs ,BPA +Ext200mg | -0,2017 | -0,4638to0,06049 | No | ns | | |
| Ext 200mg/kg ,Ext 400mg/kg | 0,06333 | -0,1988to0,3255 | No | ns | | |
| Ext 200mg/kg vs , BPA +Ext 400mg/kg | -0,1867 | -0,4488to0,07549 | No | ns | | |
| BPA +Ext 200mg/kg vs,Ext 400mg/kg | 0,265 | 0,002839to0,5272 | No | ns | | |
| BPA +Ext 200mg/kg vs,BPA +Ext 400mg | 0,015 | -0,2472to0,2772 | yes | * | | |
| Ext 400 mg/kg vs ,BPA +Ext 400mg/kg | -0,25 | -0,5122to0,01216 | No | ns | | |
| Test details | Mean1 | Mean 2 | Mean ,Diff | SE of diff | n1 | n2 |
| Témoïn vs,BPA | 0,7933 | 0,6467 | 0,1467 | 0,07805 | 3 | 3 |