

Article original

L'effet toxique d'un insecticide (alphaméthrine) sur l'activité du système enzymatique de détoxification du glutathion

The toxic effect of an insecticide (alphamethrin) on the activity of detoxifying glutathione enzymatic system

Wassila Aouacheri^{1*}, Saad Saka¹, Rachid Djafer²

¹ Laboratoire de Biochimie et Microbiologie Appliquée, Département de Biochimie, Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie

² Laboratoire de Toxicologie, CHU Ibn Sina, Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie

Résumé – Objectif : Cette étude porte sur l'effet toxique d'un insecticide synthétique largement utilisé dans l'agriculture (alphaméthrine), tout en évaluant son impact sur la cellule vivante. **Matériels et méthodes :** Des rats mâles (*Albino wistar*) sont repartis en quatre groupes dont trois ont été traités par gavage de la DL₅₀ par 85, 170 et 255 mg/kg, correspondant respectivement à 1/10, 2/10 et 3/10 de DL₅₀ de l'alphaméthrine. Le traitement a duré 7 jours, le 8^e jour les animaux ont été décapités. Le foie a été prélevé pour servir au dosage de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx) et de la glutathion réductase (GR) ainsi que le taux du glutathion (GSH). Le GSH réduit a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode de Weckbecker et Cory, l'activité enzymatique de la GPx a été évaluée par la méthode de Pinto et Bartley. En ce qui concerne l'activité de la GR, elle a été déterminée par la méthode de Horn. Le dosage des protéines a été réalisé par la méthode de Bradford. **Résultats :** Les résultats obtenus ont montré que le traitement des rats avec l'alphaméthrine a provoqué un changement dans le cycle d'oxydoréduction du glutathion, dû à l'apparition de composés toxiques électrophiles et hydroperoxydes. Ces données indiquent que le contenu du glutathion réduit dans le foie des rats traités avec les trois doses d'alphaméthrine a diminué significativement en comparaison avec le lot témoin, avec respectivement les pourcentages suivants : 16,4 % ($p < 0,05$), 25 % ($p < 0,01$) et 40 % ($p < 0,001$). Un changement significatif de l'activité de la GPx est observé au niveau des groupes traités avec les trois doses de cet insecticide, l'activité de cette enzyme a augmenté significativement avec un pourcentage de 48 % ($p < 0,05$), 78 % ($p < 0,001$) et 94 % ($p < 0,001$), respectivement, aux doses étudiées. L'effet de l'insecticide sur l'activité de la GR hépatique est démontré par une augmentation significative chez les rats traités avec 170 mg/kg d'alphaméthrine ($p < 0,01$; 44 %), et 255 mg/kg ($p < 0,001$; 66 %) comparativement avec les rats non traités. **Conclusion :** Au regard des résultats obtenus, une relation étroite a été observée entre la diminution du taux de GSH hépatique et l'augmentation des activités de la GPx et GR chez les rats traités par l'alphaméthrine. Ceci explique probablement le rôle du système de GSH dans la détoxification des métabolites toxiques de l'insecticide et donc la protection de la cellule vivante.

Mots clés : Glutathion, glutathion peroxydase, glutathion réductase, alphaméthrine, détoxification

Abstract – Objective: We study the toxic effect of a synthetic insecticide widely used in agriculture (alphamethrin), while assessing its impact on the living cell. **Materials and methods:** Male rats (*Albino wistar*) are divided into 4 groups, three of which were treated by force-feeding by 85, 170 and 255 mg/kg of body weight, corresponding to 1/10, 2/10 and 3/10 of LD₅₀ of the alphamethrin. The treatment lasted 7 days; on the 8th day, the animals were decapitated. The liver is taken to serve the determination of the glutathione peroxidase (GPx) and glutathione reductase (GR) activities and the glutathione (GSH) level. The reduced GSH was determined by spectrophotometry, according to the Weckbecker and Cory method, the GPx activity was estimated by Pinto and Bartley method, as regards the glutathione GR activity was determined by Horn method. The content of proteins is determined by the method of Bradford. **Results:** The results show that the treatment of rats with alphamethrin causes a disturbance in the glutathione redox cycle due to the appearance of toxic electrophile and hydroperoxide compounds. These data indicate that the reduced glutathione content in liver of treated rats with three doses of alphamethrin is decreased significantly in comparison with the control group, with the following percentages: 16.4% ($p < 0.05$), 25% ($p < 0.01$)

* Correspondance : Wassila Aouacheri, Tél./Fax + 213 38 87 10 61, aouacheriwa@yahoo.fr

and 40% ($p < 0.001$), respectively. Significant changes in the GPx activity occurred between the groups treated with three doses of insecticide, the activity of this enzyme increases significantly with a percentage of 48% ($p < 0.05$), 78% ($p < 0.001$) and 94% ($p < 0.001$), respectively with the doses studied. The effect of insecticide on the activity of hepatic GR is shown by a significant increase in rats treated with 170 mg/kg dose of alphasmethrin ($p < 0.01$, 44%), and the dose 255 mg/kg ($p < 0.001$, 66%) compared with untreated rats. **Conclusion:** In view of these results, a close relationship was observed between the decrease of hepatic GSH and the increased activity of GPx and GR in rats treated with alphasmethrin. This probably explains the role of GSH system in the detoxification of toxic metabolites of the insecticide and therefore the protection of the living cell.

Key words: Glutathione, glutathione peroxidase, glutathione reductase, alphasmethrin, detoxification

Cet article fait suite à une communication orale présentée au Congrès mixte international SFTA-SMTCA-STC (Essaouira, Maroc, 16-18 octobre 2008)

Reçu le 17 décembre 2008, accepté après modifications le 15 avril 2009

Publication en ligne le 3 juin 2009

1 Introduction

L'alphaméthrine (alpha-cyan-3-phénoxybenzyl-1, 3-2-dichlorovinyl-2-diméthyl chloropropane carboxylate) est un pyrèthroïde de synthèse, neurotoxique qui a été largement utilisé comme insecticide. Sa DL_{50} est estimée chez le rat à 850 mg/kg (*Shell Company Ltd*). La majorité des insecticides sont métabolisés chez les mammifères et sont facilement éliminés par l'appareil digestif [1, 2]. Mais leur grand caractère lipophile les rend des substances actives et toxiques, qui ont une influence sur le foie, le système nerveux, les reins... etc. Ces organes ne se distinguent pas seulement par leur grande teneur en lipides, mais sont aussi impliqués dans les processus d'excrétion et de détoxification [1]. Au niveau de toutes les cellules vivantes il existe un système de défense appelé le système enzymatique du glutathion, qui assure la détoxification des substances endogènes et exogènes, menant à la formation de composés solubles dans l'eau, et donc rapidement éliminés de l'organisme. Ces processus passent par plusieurs étapes biochimiques étroitement liées avec d'autres enzymes, transformant les composés tel que les insecticides, les drogues, les hormones, les médicaments etc., en des composés non toxiques ou moins toxiques [3-5].

Le cycle d'oxydoréduction du glutathion fait intervenir deux enzymes essentielles : la glutathion réductase (GR) (EC : 1.6.4.2) qui transforme le glutathion oxydé (GSSG) en sa forme réduite (GSH) et la glutathion peroxydase (GPx) (EC : 1.11.1.9), qui active la réaction de transformation des hydroperoxydes en alcools primaires [3]. Ce système enzymatique contient également la glutathion S-transférase (GST) qui catalyse la réaction entre le glutathion réduit et les substances étrangères (xénobiotiques, carcinogènes et composés électrophiles etc.) avec la formation des métabolites glutathion-conjugués [3].

Le glutathion est un tripeptide connu par son rôle important dans la détoxification des composés toxiques électrophiles et les xénobiotiques par des réactions de conjugaison catalysées par la glutathion S-transférase avec la formation des acides mercapturiques [4, 5]. La GPx est la seule séléno-enzyme dans les cellules des mammifères, sa molécule contient quatre atomes de sélénium dans le centre actif sous forme de séléno-cystéine. Elle catalyse les réactions de réduction des peroxydes organiques et inorganiques, en utilisant le glutathion réduit comme donneur de protons, ce qui provoque

l'oxydation de glutathion réduit (GSH) en glutathion oxydé (GSSG) et la production d'alcool primaire non toxique [6, 7].

Afin de maintenir un équilibre de l'état d'oxydoréduction de glutathion (GSH/GSSG), la GR qui est une enzyme flavo-protéique cytosolique, catalyse les réactions de réduction du glutathion oxydé (GSSG) en forme réduite (GSH) en présence du co-enzyme $NADPH+H^+$ [8, 9]. En d'autres termes, la GR régule et maintient le ratio GSH/GSSG normal, qui est estimé à 100/1 [10,11]. La fonction importante de cette enzyme contre le stress oxydatif est de protéger la cellule vivante de l'accumulation du glutathion oxydé, des protéines-SSG et d'autres composés disulfures [7].

Le glutathion réduit et la glutathion réductase jouent un rôle important dans la protection des cellules qui ne peuvent pas synthétiser des macromolécules, telles que les fibres des lentilles de l'œil et des érythrocytes matures. Le glutathion réduit est essentiel pour la déformation et la flexibilité des globules rouges car il assure la stabilisation des groupes sulfhydryle de la membrane cellulaire, de l'hémoglobine et des enzymes cellulaires [12].

L'oxydation du glutathion réduit par la GPx est liée à la réduction de glutathion oxydé par la GR, ceci est important dans la définition de l'état d'oxydoréduction du glutathion. La régulation du rapport GSH/GSSG est une fonction importante pour les deux enzymes et il est très élevé dans les organes de détoxification tels que le foie, les reins et les intestins [13].

Le but de cette recherche est d'étudier le rôle du système redox du glutathion hépatique après le traitement par un insecticide toxique. Pour cela des rats mâles sont traités pendant sept jours avec trois doses différentes (85, 170 et 255 mg/kg) d'alphaméthrine. L'intérêt de ceci est de clarifier le métabolisme de ce pyrèthroïde synthétique dans le foie, qui constitue le site des réactions de détoxification dans l'organisme.

2 Matériels et méthodes

2.1 Animaux

Vingt-quatre rats mâles (*Albino wistar*) ont été fournis par l'Institut Pasteur d'Alger, âgés de 10 semaines, avec un poids moyen de 250 ± 10 g. Les rats ont été exposés à une photopériode journalière de 12 h et une température ambiante de 21 ± 3 °C. Ils ont été nourris par un régime alimentaire standard, l'eau étant quotidiennement renouvelée. Après la période

Tableau I. Taux de glutathion hépatique (nM/mg prot), activités enzymatiques des glutathion peroxydase (mU/mg prot) et glutathion réductase (U/mg prot) chez les rats témoins et traités par l'alphaméthrine (85, 170 et 255 mg/kg) (chaque valeur représente la moyenne \pm SD de 6 animaux).

Groupe expérimental	Taux du glutathion	Activité de la GPx	Activité de la GR
Contrôle	44,20 \pm 4,16	0,956 \pm 0,133	2,23 \pm 0,37
85 mg/kg	36,95 \pm 1,52 *	1,166 \pm 0,108 *	2,69 \pm 0,13
170 mg/kg	33,14 \pm 3,10 **	1,422 \pm 0,178 ***	3,22 \pm 0,19 **
255 mg/kg	26,62 \pm 2,17 ***	1,703 \pm 0,061 ***	3,70 \pm 0,16 ***

* ($P < 0,05$); ** ($P < 0,01$); *** ($P < 0,001$)

d'accoutumance, les animaux ont été repartis au hasard en 4 groupes de 6 rats chacun. Pour la collecte des urines, les rats ont été isolés individuellement dans des cages métaboliques. Le traitement des rats a été réalisé par gavage oral (*per os*) en administrant 1 mL de chaque dose (85, 170 et 255 mg/kg du poids corporel, correspondant respectivement à 1/10, 2/10 et 3/10 de la DL₅₀) de l'alphaméthrine, qui a été diluée dans une solution d'huile d'olive. Les rats témoins ont été traités *per os* avec 1 mL d'huile d'olive uniquement. Pendant les 7 jours du traitement, les rats ont été maintenus isolés individuellement dans des cages métaboliques afin de mesurer quotidiennement la consommation d'eau et d'alimentation, ainsi que le volume des urines. Le 8^e jour, les animaux ont été décapités, le foie et les reins rapidement retirés, lavés avec 0,1 M de tampon phosphate (pH 7,4), pesés, puis le foie a été divisé en trois parties pour le dosage de l'activité enzymatique de la GPx et de la GR ainsi que le taux de GSH.

2.2 Méthodes

Le glutathion réduit a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode de Weckbecker et Cory [14]; l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase a été évaluée par la méthode de Pinto et Bartley [15]; en ce qui concerne l'activité de la glutathion réductase, elle a été déterminée par la méthode de Horn [16]. Le dosage des protéines a été effectué par la méthode de Bradford [17].

3 Analyse statistique

Les différences significatives entre le contrôle et les groupes traités ont été déterminées par le test *t* de Student's.

4 Résultats

Les résultats obtenus ont montré que le traitement des rats avec l'insecticide alphaméthrine a provoqué un changement dans le cycle d'oxydoréduction du glutathion (tableau I). Ces données indiquent que le contenu du glutathion réduit dans le foie des rats traités avec les trois doses d'alphaméthrine a diminué significativement en comparaison avec le lot témoin. La diminution du taux de glutathion réduit est proportionnelle à l'augmentation des doses d'insecticide. Le traitement avec les doses 85, 170 et 255 mg/kg correspondant respectivement à

Tableau II. Consommations d'eau (mL/jour) et d'aliment (g/jour) et volume des urines (mL/jour) des rats témoins de ceux traités par l'alphaméthrine (85, 170 et 255 mg/kg) (chaque valeur représente la moyenne \pm SD de 6 animaux).

Groupe expérimental	Consommation d'eau	Consommation d'aliment	Volume des urines
Témoin	28,9 \pm 0,5	15,4 \pm 0,7	6,3 \pm 3,4
85 mg/kg	30,3 \pm 0,9	15,8 \pm 0,3	3,1 \pm 1,8 *
170 mg/kg	29,3 \pm 0,6	16,0 \pm 0,9	2,9 \pm 1,4 *
255 mg/kg	27,7 \pm 0,7	15,2 \pm 0,5	3,2 \pm 2,0 *

* ($P < 0,05$)

1/10, 2/10 et 3/10 de la DL₅₀ de l'alphaméthrine pendant sept jours a causé une diminution significative du glutathion avec respectivement les pourcentages suivants : 16,4 % ($P < 0,05$), 25 % ($P < 0,01$) et 40 % ($P < 0,001$) tout en comparant avec le groupe témoin.

Le changement significatif de l'activité de la GPx est signalé au niveau des groupes traités avec les trois doses de cet insecticide. Après sept jours de traitement avec les doses 85, 170 et 255 mg/kg d'alphaméthrine, l'activité de cette enzyme a augmenté significativement et respectivement avec un pourcentage de 48 % ($P < 0,05$), 78 % ($P < 0,001$) et 94 % ($P < 0,001$) comparativement au groupe témoin.

L'effet de l'insecticide sur l'activité de la glutathion réductase hépatique est démontré par une augmentation significative chez les rats traités avec la dose 170 mg/kg de l'alphaméthrine (44 %), et la dose 255 mg/kg (66 %) par rapport aux rats non traités.

Aucune différence significative n'a été signalée dans la consommation d'eau, ni d'aliment pendant toute la période expérimentale. Cependant, les résultats de la collecte des urines ont montré une diminution de volume excrété par tous les groupes traités à l'alphaméthrine, ce qui reflète un effet néphrotoxique de cet insecticide (tableau II). L'administration de différentes doses d'alphaméthrine n'a provoqué aucun changement sur le poids corporel des rats, ni sur le poids des organes reins et foie (tableau III).

5 Discussion

Des changements significatifs dans le système d'oxydoréduction du glutathion ont été observés, en particulier dans le foie des rats traités avec des doses élevées d'alphaméthrine,

Tableau III. Prise de poids corporel (g/jour), poids des reins et du foie (g) des rats témoins et traités par l'alphaméthrine (85, 170 et 255 mg/kg) (chaque valeur représente la moyenne \pm SD de 6 animaux).

Groupe expérimental	Prise de poids corporel	Poids des reins	Poids du foie
Contrôle	3,0 \pm 0,7	3,4 \pm 0,3	12,7 \pm 0,4
85 mg/kg	2,9 \pm 0,8	3,1 \pm 0,8	12,8 \pm 0,5
170 mg/kg	2,8 \pm 0,3	3,1 \pm 0,9	13,0 \pm 0,9
255 mg/kg	2,8 \pm 0,6	3,0 \pm 0,4	12,9 \pm 0,4

due à l'apparition de composés électrophiles et hydroperoxydes toxiques. Les données montrent une diminution significative du contenu de glutathion réduit dans le foie en raison de son interaction dans le processus de détoxification des métabolites actifs résultants de l'alphaméthrine. Les cellules hépatiques jouent un rôle important dans le métabolisme des pyréthroïdes à travers de nombreuses réactions, produisant des métabolites intermédiaires toxiques tels que les peroxydes et les xénobiotiques. Ces composés entrent dans les réactions d'oxydoréduction ou les réactions de conjugaison nécessitant du glutathion réduit, entraînant sa forte consommation, et donc sa diminution dans les cellules vivantes [18]. Il est bien connu que le glutathion réduit a un rôle important dans la biotransformation de substances exogènes y compris les xénobiotiques qui résultent des insecticides [19, 20] et les peroxydes de lipides produits à partir des huiles chauffées. Le glutathion réduit a donc un rôle de protecteur des cellules contre les actions toxiques [21].

La baisse du taux de glutathion réduit est en concordance avec l'augmentation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase GPx (première enzyme dans le cycle d'oxydoréduction du glutathion). Ceci est probablement dû à l'apparition d'une grande quantité de peroxydes sous l'influence de l'alphaméthrine. La capacité du glutathion réduit à réduire les hydroperoxydes formés lors du métabolisme de l'alphaméthrine, sous l'action de la glutathion peroxydase, conduit à l'oxydation massive du glutathion en glutathion oxydé menant à un déséquilibre du rapport GSH/GSSG. L'augmentation de l'activité de cette enzyme (GPx) montre que les cellules du foie peuvent probablement contenir une forte concentration de H₂O₂ et d'hydroperoxydes organiques [22, 23]. Le degré d'oxydation aérobie du glutathion a un effet sur le H₂O₂, les hydroperoxydes et la glutathion peroxydase. En raison de la participation de H₂O₂ dans l'oxydation du glutathion réduit, il est possible que l'enzyme catalase prenne également une part dans la réduction de H₂O₂. Grâce aux réactions d'oxydoréduction de la glutathion peroxydase, le glutathion réduit est capable de réduire et détoxifier les différents types d'hydroperoxydes formés par les réactions du métabolisme de l'alphaméthrine. Le glutathion réduit (GSH) est alors transformé en sa forme oxydée, ceci entraîne la consommation du GSH qui est la raison de la diminution significative de son niveau.

Pour maintenir un rapport normal GSH/GSSG, qui est d'environ 100/1, la glutathion réductase GR (deuxième enzyme dans le cycle d'oxydoréduction du glutathion) intervient en utilisant le NADPH+H⁺ pour la réduction du glutathion

oxydé à la forme réduite. Sies et coll. [24] ont affirmé que cette enzyme est responsable de la régénération de plus de 97 % du glutathion réduit total à partir du glutathion oxydé. Toutefois, la forte diminution du glutathion réduit sous l'influence de l'alphaméthrine ne permet pas d'augmenter son niveau, malgré l'augmentation de 44 % de l'activité de la glutathion réductase pour la dose 170 mg/kg et de 66 % pour la dose 255 mg/kg. La présence de la glutathion réductase est essentielle pour défendre la cellule vivante contre les hydroperoxydes. Elle permet la réduction du glutathion oxydé (GSSG) en sa forme réduite (GSH).

Par conséquent, l'augmentation sensible des activités enzymatiques de la GPx et la GR après le traitement par l'alphaméthrine peut être expliquée en premier lieu par la participation du glutathion réduit dans la réduction de tous les types de peroxydes résultants du métabolisme des insecticides, puis par leur accumulation dans l'organisme des animaux. Le glutathion réduit (GSH) transformé en sa forme oxydée (GSSG), entraîne alors la modification du ratio normal GSH/GSSG. En fait, la glutathion réductase restaure ce rapport à l'ordre de 100/1 par la réduction du GSSG en GSH [11].

Le traitement avec différentes doses d'un pyréthroïde synthétique, l'alphaméthrine, n'a pas affecté de manière significative l'évolution des paramètres suivants : gain de poids, prise alimentaire, consommation d'eau, poids des reins et du foie. Il est suggéré que l'alphaméthrine n'a pas d'influence sur l'appétit des rats qui peuvent donc conserver leurs poids [21]. Néanmoins, le traitement par l'alphaméthrine a conduit à un endommagement de la fonction rénale. Les changements de la fonction rénale reflètent à la fois l'action directe sur les reins et la perturbation de la régulation hormonale. Les métabolites de l'alphaméthrine produisent probablement des lésions au niveau du tube proximal entraînant la modification du transport de sodium et l'équilibre des fluides [25]. Cet effet néphrotoxique a entraîné la diminution du volume urinaire.

6 Conclusion

Une relation inversement proportionnelle apparaît entre la baisse du contenu de glutathion et l'augmentation des activités enzymatiques de la GPx et la GR chez les rats traités avec l'alphaméthrine. Cela pourrait être simplement expliqué par la participation du système d'oxydoréduction de glutathion dans les réactions de détoxification des peroxydes. Enfin, nous pouvons dire que l'alphaméthrine en tant que pyréthroïde de synthèse, a un effet toxique sur le foie et les reins, car il influence le système d'oxydoréduction du glutathion, ce qui augmente la formation des peroxydes et inhibe la biosynthèse du glutathion.

Remerciements. Ce travail fait partie du projet de recherche scientifique agréé par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique en Algérie « Études biochimiques et toxicologiques d'un environnement pollué » enregistré sous le numéro F : 2301/14/2005. Nous remercions l'équipe de l'Institut Pasteur d'Alger de nous avoir fourni les rats.

Références

1. Ivie GW, Hunt LM. Metabolites of cis-and trans-permethrin in lactating goats. *J Agric Food Chem.* 1980; 28: 1131-1138.
2. Aouacheri W, Saka S, Djafer R. Capacity of glutathione in enzymatic detoxification of tetramethrine metabolites. *C R Acad Bulg Sci.* 2003; 56(6): 85-88.
3. Habig WH, Pabst MJ, Jacoby WB. Glutathione S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem.* 1974; 249: 7130-7139.
4. Jacoby WB. The glutathione S-transferase: A group of multifunctional detoxification proteins. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol.* 1978; 46: 383-414.
5. Saka S. Glutathione S-Transferase activity under the effect of stable structure of estrogens. *C R Acad Bulg Sci.* 1990; 43(7): 93-95.
6. Di Ilio C, Del Boccio G, Casaccia R, Aceto A, Di Giacomo F, Fedirici G. Selenium level and glutathione-dependent enzyme activities in normal and neoplastic human lung tissues. *Carcinogenesis.* 1987; 8: 281-284.
7. Bellomo G, Mirabelli F, Di Monte D, Richelmi P, Thor H, Orrenius C, Orrenius S. Formation and reduction of glutathione-protein mixed disulfides during oxidative stress. *Biochem Pharmacol.* 1987; 36(8): 1313-1320.
8. Sies H, Gerstenecker C. Oxidation in NADP system release of GSSG from haemoglobin-free perfused rat liver during peroxidative oxidation of glutathione by hydroperoxides. *FEBS Lett.* 1972; 27: 171-175.
9. Schirmer RH, Krauth-Siegel RL, Shulz GE. Glutathione reductase. In: Dolphin D, Poulson R, Avramovic O (coordinateurs). *Glutathione: chemical, biochemical and medical aspects (part A).* New York: John Wiley and Sons 1989: 553-596.
10. Kosower NS, Kosower EM. The glutathione status of rats. *Int Rev Cytol.* 1978; 54: 109-160.
11. Zhu BT, Liehr JG. Quercetin increases the severity of estradiol-induced tumorigenesis in hamster kidney. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1994; 125: 149-158.
12. Krohne EG, Schirmer RH, Untucht-Grau R. Glutathione reductase from human erythrocytes, isolation of the enzyme and sequence analysis of the redox-active peptide. *Eur J Biochem.* 1971; 80: 65-71.
13. Al-Farra MA, Saka S. The role of glutathione reductase in living cell protection from toxic effect of lipid peroxides, arising from heated oils. *C R Acad Bulg Sci.* 1997; 50: 117-120.
14. Weckbercker G, Cory JG. Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione- depended mouse leukaemia L 1210 cells in vitro. *Cancer Lett.* 1988; 40: 257-264.
15. Pinto RE, Bartley W. The effect of age and sex on glutathione reductase and glutathione peroxidase and on an aerobic glutathione oxidation in rat liver homogenates. *Biochem J.* 1969; 112: 109-115.
16. Horn HD. Glutathione reductase. In: Bergmayer H (coordinateur). *Methods of enzymatic analysis.* New York: Academic Press 1965: 875-879.
17. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976; 72: 248-254.
18. Saka S, Bairi A, Guellati M. Relations immuno-corticitropes dans un environnement nociceptif chez la rate wistar. *J Soc Biol.* 2003; 197(1): 67-71.
19. Gaughan LC, Unai T, Casida JE. Permethrin metabolism in rats. *J Agric Food Chem.* 1977; 25: 9-17.
20. Hata Y, Watanabe M, Tonda K, Hirata M. Cellular glutathione conjugation of aziridines in isolated rat hepatocytes. *Biochem Pharmacol.* 1988; 37: 1351-1355.
21. Saka S, Aouacheri W, Abdennour C. The capacity of glutathione reductase in cell protection from the toxic effect of heated oils. *Biochim.* 2002; 84: 661-665.
22. Little C, O'Brien PJ. An intracellular GSH-peroxidase with a lipid peroxide substrate. *Biochem Biophys Res Commun.* 1968; 31: 145-150.
23. Hu ML, Dillard CJ, Tappel AL. Aurothio-glucose effect on sulfhydryls and glutathione-metabolising enzymes: in vivo inhibition of selenium-dependent glutathione peroxidase. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.* 1988; 59: 147-160.
24. Sies H, Brigelius R, Akarboom TPM. Intrahepatic glutathione status. In: Larsson A (coordinateur). *Functions of glutathione: biochemical, physiological, toxicological and chemical aspects.* New York: Raven Press 1983: 51-65.
25. Rehm S, Waakes MP. Acute cadmium chloride-induced renal toxicity in the Syrian hamster. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1990; 104: 94-99.