

CONTRIBUTION DES RESEAUX DE NEURONES ARTIFICIELS (RNA) A LA CARACTERISATION D'UN STRESS OXYDATIF CHEZ *Saccharomyces cerevisiae* INDUIT PAR LE CADMIUM. MISE EN EVIDENCE D'UN BIOMARQUEUR POTENTIEL (CAS DU MALONDIALDEHYDE)

Reçu le 13/12/2010– Accepté le 29/05/2011

Résumé

Le stress oxydant qui résulte, rappelons-le, d'un déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et anti-oxydants, peut être évalué selon deux approches principales faisant appel à la mesure : - des systèmes anti-oxydants (enzymatiques et non enzymatiques), - des dommages créés par l'attaque des radicaux libres sur les principales cibles moléculaires biologiques (lipides, protéines, glucides etc...). La difficulté est de choisir tel ou tel biomarqueur pour apprécier son importance *in vitro* car on se heurte à des problèmes analytiques de spécificité et de sensibilité. L'analyse exploratoire de données expérimentales utilise fréquemment des outils statistiques. cet article présente l'applicabilité détaillée des réseaux neuronaux artificiels (RNA) et à leur contribution à l'étude de l'évaluation du stress oxydatif induit par le cadmium chez *Saccharomyces cerevisiae*. Il comporte une description de la méthodologie des RNA et l'avantage de l'intelligence artificielle sur l'analyse statistique actuelle.

Mots-clés : Stress oxydatif – Biomarqueur - Malonaldéhyde - Cadmium- *Saccharomyces cerevisiae* - Réseaux neuronaux artificiels (RNA).

Abstract

The resulting oxidative stress, an imbalance between pro-oxidants and antioxidants [1], can be evaluated using two main approaches involving the measurement of: - antioxidant systems (enzymatic and nonenzymatic) - the damage created by free radical attack on the most biological molecular targets (lipids, proteins, carbohydrates etc ...). The exploratory analysis of experimental data is frequently used statistical tools. The difficulty is to choose a convenient marker to appreciate its importance *in vivo* because of analytical problems of specificity and sensitivity. This chapter presents a detailed introduction regarding Artificial Neural Networks (ANNs) and their contribution to the study of the evaluation of oxidative stress induced by cadmium in *Saccharomyces cerevisiae*. It includes a description of ANNs methodology, and its advantages over current statistical analysis.

Keywords: Oxidative stress - Biomarker - Malonaldehyde - Cadmium- *Saccharomyces cerevisiae* - Artificial Neural Networks (ANNs).

M. DJEKOUN¹
R. DJEBAR²
S. BENSOLTANE²
L. GHRIEB¹

¹ Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, Département de Biologie, Université du 08 mai 45, Guelma, Algérie.

² Laboratoire de Toxicologie cellulaire, Université Badji- Mokhtar, Annaba, Algérie.

ملخص

الإجهاد التأكسدي الناتج عن عدم التوازن بين موالية التأكسد ومضادات الأوكسدة يمكن تقييمه باستخدام نهجين يعتمدان على قياس: - أنظمة مضادة للأوكسدة (الأنزيمية وغير أنزيمية) - الأضرار الناجمة عن الهجوم على الجذور الحرة على الأهداف الرئيسية الجزيئية البيولوجية (الدهون والبروتينات والكربوهيدرات ، الخ...). الصعوبة تكمن في اختيار العلامات البيولوجية لتقدير أهميته في المختبر لأننا نواجه مشاكل تحليلية في الخصوصية والحساسية. وكثيرا ما تستخدم الأدوات الإحصائية في التحليلات الإستكشافية للمعطيات التجريبية البيولوجية. هذا المقال يعرض إمكانية التطبيق المفصل للشبكات العصبية الاصطناعية ، ومساهمتها في دراسة تقييم الأوكسدة التي يسببها الكاديوم عند *Saccharomyces cerevisiae*. وهو يتضمن وصفا لمنهجية الشبكات العصبية الاصطناعية ، والاستفادة من الذكاء الاصطناعي على التحليل الإحصائي الحالي.

الكلمات المفتاحية : الإجهاد التأكسدي، العلامات البيولوجية، *Malonaldehyde* ، الكاديوم، *Saccharomyces cerevisiae* ، الشبكات العصبية الاصطناعية

La mesure des teneurs de paramètres des systèmes antioxydants enzymatiques et les dégâts oxydatifs cellulaires (lipides, protéines et glucides), induits par une pollution métallique (cadmium) et le choix d'un modèle biologique (*Saccharomyces cerevisiae*) constituent la phase initiale, souvent déterminante, de la prédiction d'un stress oxydatif.

L'exploitation des données expérimentales (*in vitro*) à l'aide de méthodes exploratoires de données permet de mettre en évidence certaines caractéristiques typiques de la pollution en cause. Ces caractéristiques, véritables «signatures» de la pollution, peuvent être utilement exploitées pour des cas de pollution similaire. Les méthodes d'analyse exploratoire sont applicables à la résolution des problèmes caractérisés par une faible connaissance a priori des relations entre les données.

Les réseaux de neurones artificiels (RNA) sont des outils de calcul puissants permettant ce type d'analyse de données dans le domaine de sciences de la terre [1, 2].

Le cadmium (Cd) est un contaminant industriel et environnemental d'intérêt toxicologique à cause de son ubiquité, de sa grande réactivité et de sa persistance dans les milieux biologiques, a fait l'objet de nombreux travaux scientifiques [3, 4, 5, 6].

Nous présentons ici les résultats principaux de l'investigation d'une base de données issue d'études d'audits réalisées au niveau du laboratoire de Toxicologie Cellulaire (Université Badji Mokhtar –Annaba). Cet article illustre l'intérêt des RNA dans l'exploitation des informations relatives aux mesures des biomarqueurs suite au traitement de *Saccharomyces cerevisiae* avec les différentes concentrations du Cd, afin d'optimiser le nombre d'essai et de déterminer les biomarqueurs discriminants lors d'un stress oxydatif.

INTERET, LIMITE ET APPROCHE PREDICTIVE DES BIOMARQUEURS

Un biomarqueur a été défini comme étant "un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental, qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant." [7].

Un grand nombre de paramètres quantifiables au niveau de l'organisme entrent dans le cadre de cette définition. De ce fait, une large gamme de biomarqueurs permet de couvrir pratiquement tous les types de pollutions chimiques rencontrées actuellement dans l'environnement. Ils constituent donc un outil qui peut révéler la contamination et, de plus utiles pour le diagnostic de l'état santé d'un organisme. A partir de ce diagnostic, basé sur les réactions des individus, est-il possible de prévoir les effets des polluants (cadmium) tel qu'un stress oxydatif ?

A l'instar de leur utilisation chez l'homme pour évaluer un risque vis-à-vis de la santé, plusieurs auteurs proposent l'intégration des biomarqueurs dans des démarches d'évaluation du risque environnemental [8] tandis que d'autres mettent l'accent sur leur limites [9].

Les principales limitations des mesures de biomarqueurs pour l'évaluation du statut oxydatif sont ainsi la difficulté à discriminer entre réponses adaptatives « naturelles » et réponses au stress chimique, à extrapoler des réponses d'une échelle d'organisation biologique à une autre (cellule-individu-population-communauté) et d'une espèce à une autre.

PROBLEMATIQUE GENERALE

Dans ce travail, nous avons utilisé la levure *Saccharomyces cerevisiae* comme un modèle alternative pour la mise en évidence des réponses induites par le Cadmium; en effet, cette levure est souvent utilisée comme un indicateur de pollution [10-11].

La pollution chimique représente un problème environnemental complexe, tant en termes scientifiques qu'en termes de décision publique. Les données expérimentales permettant d'asseoir une stratégie efficace sont souvent en nombre trop limité (étant donné le coût des analyses) pour offrir tout le recul nécessaire sur un bio-essai donné. C'est la raison pour laquelle il est souhaitable de tirer profit des données d'audits disponibles sur des approches biologiques similaires. Comment envisager le choix de ces biomarqueurs, pour la mise en évidence d'un stress oxydatif avant la mise en œuvre de ces mesures, indispensables pour leur interprétation en termes d'exposition et d'effet :

- la cinétique de réponse du biomarqueur au stress est-elle connue et cohérente avec l'usage souhaité, sa rémanence est-elle compatible avec l'intégration temporelle des effets recherchés ?
- les conséquences biologiques potentielles. Quelle interprétation sur le statut physiologique et la performance des individus peut-on attribuer à la mesure du biomarqueur ?
- la sensibilité. La réponse du biomarqueur est-elle plus sensible qu'une mesure de critères plus conventionnels, tels que la mortalité individuelle ou la reproduction ?

Ces divers paramètres, masqués dans une donnée isolée, sont susceptibles de se manifester sous une forme statistique accessible, en rassemblant dans une base une quantité suffisante de données représentatives de la réalité. Pour se faire, on utilise des données issues d'un bioessai impliquant un stressor (Cd) et un bioindicateur, soumis à l'influence de conditions expérimentales variables. La méthode d'analyse exploratoire a donc pour objectif principal « d'optimiser » le nombre de paramètres et d'en faire ressortir le biomarqueur potentiel.

Les RNA sont un outil de calcul permettant de développer cette démarche. Ils utilisent, pour l'analyse des informations, un ensemble de fonctions mathématiques, des paramètres organisés et une méthodologie d'apprentissage calquée, selon les concepteurs, sur le fonctionnement du cerveau.

DEVELOPPEMENT D'UN MODELE NEURONAL
Réseaux de neurones artificiels
Principe général

Les RNA (ou ANN) constituent une nouvelle approche de modélisation des systèmes complexes, particulièrement utile lorsque ces systèmes sont difficiles à modéliser à l'aide des méthodes statistiques classiques. Les RNA sont issus des premiers travaux réalisés dans le domaine de l'intelligence artificielle pour modéliser le fonctionnement du cerveau humain [12] en se basant principalement sur le concept des neurones. Il s'agit d'un modèle empirique non linéaire [13] qui se compose d'éléments de traitement interconnectés (neurones) travaillant conjointement pour résoudre un problème spécifique. Un réseau de neurones est un système de calcul composé d'éléments de traitement simples fortement interconnectés, qui traitent l'information par leur changement d'état dynamique en réponse à une entrée externe [14].

Connexions entre les neurones

Les réseaux de neurones sont organisés en couches (Fig.1). Ces dernières se composent d'un certain nombre de neurones interconnectés qui contiennent une fonction d'activation. Des entrées (X_1, X_i, \dots, X_n) sont présentées au réseau par l'intermédiaire de la couche d'entrée, qui les communique aux couches cachées où le traitement s'effectue en utilisant des connexions pondérées. Puis, les couches cachées transmettent la réponse à la couche de sortie (S). Les connexions entre les neurones se font par des poids (W_1, W_i, \dots, W_n).

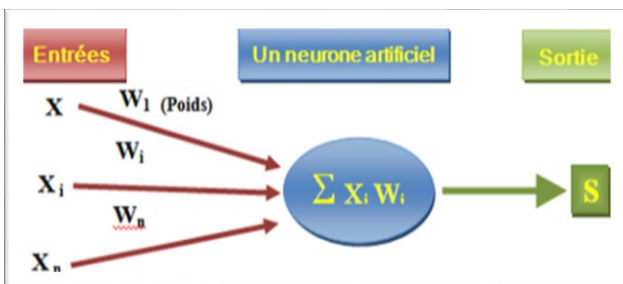


Figure 1 : Schéma d'un neurone artificiel.

Le fonctionnement d'un neurone artificiel s'inspire du fonctionnement schématisé du neurone humain.

Le tableau suivant résume l'analogie entre les neurones biologiques et artificiels.

Tableau 1 : Analogie entre les neurones biologiques et artificiels.

| Neurone biologique | Neurone artificiel |
|--------------------|--------------------------|
| Soma | Neurone |
| Dendrite | Entrée (<i>Input</i>) |
| Axone | Sortie (<i>Output</i>) |
| Synapse | Poids |

Perceptron Multicouche (PMC)

Il existe une grande variété d'agencements possibles de neurones artificiels [15], mais le type de réseau le plus utilisé est le Perceptron Multicouche (PMC). Ce réseau comporte une ou plusieurs couches de neurones artificiels pour capter les entrées, une ou plusieurs couches cachées (MLP ou MultiLayers Perceptron) et une couche de neurones artificiels pour émettre les sorties du modèle. Chaque couche contient des unités de calcul (neurones) connectées à d'autres neurones par la voie des poids (W_{ij} et W_{jk}) [16-17-18].

La fonction de transfert ou d'activation de non linéarité peut avoir plusieurs formes différentes. La fonction la plus utilisée est en général une somme pondérée de type sigmoïde car il s'agit d'une fonction continue, non décroissante, différentiable et bornée, mais aussi elle introduit de la non linéarité et dérivée d'elle-même.

A chaque connexion entre les neurones de deux couches successives est associé un poids modifiable au cours de l'apprentissage en fonction des jeux de données en entrée et en sortie.

Si les états des neurones de la couche d'entrée sont déterminés par les variables à l'entrée du réseau, les autres neurones (de la couche cachée et de sortie) doivent évaluer l'intensité de la simulation en provenance des neurones de la couche précédente par la relation suivante :

$$S_j = \sum_{i=1}^n X_i W_{ij} + b_j$$

Avec S_j : somme des poids entre les entrées du $j^{\text{ème}}$ neurone de la couche cachée ; X_i : valeur de sortie du $i^{\text{ème}}$ neurone de couche précédente ; W_{ij} : poids synaptique du neurone i de la couche d'entrée au neurone j de la couche cachée, b_j est le biais ou le seuil d'activation du neurone j .

La réponse des neurones est une fonction d'activation non linéaire de type sigmoïde qui est défini par la formule suivante :

$$f(S_j) = \frac{1}{1 + e^{-S_j}}$$

$f(S_j)$ est pratiquement non linéaire entre 0 et 1.

Les valeurs des variables d'entrée ont été normalisées entre [0, 1] par le modèle selon l'équation suivante :

$$\bar{X} = \frac{X - X_{\min}}{X_{\max} - X_{\min}}$$

Avec : X est la valeur de la variable d'entrée, X_{\min} est sa valeur minimale, X_{\max} est sa valeur maximale et \bar{X} est la valeur de la variable normalisée.

Application du modèle de RNA (ou ANN)

Les réseaux de neurones artificiels, connus généralement sous l'acronyme ANN (Artificial Neural Network), sont des modèles mathématiques non linéaires de type "boîte noire" capables d'établir des relations entre les entrées et les sorties d'un système. Les performances de ces derniers dans la modélisation non linéaire ont été prouvées dans plusieurs domaines de l'ingénierie et de la science.

Architecture du réseau

L'architecture du réseau précise le nombre de couches qui le composent et le nombre de neurones dans chaque couche (fig. 2), ainsi que le poids des connexions. Un réseau de neurones artificiels est organisé en couches, chacune de ces couches comportant plusieurs neurones. Chacun de ces neurones qui se présente comme unité de calcul autonome, est relié à la totalité ou à certains neurones de la ou des couches précédentes par l'imposition de poids.

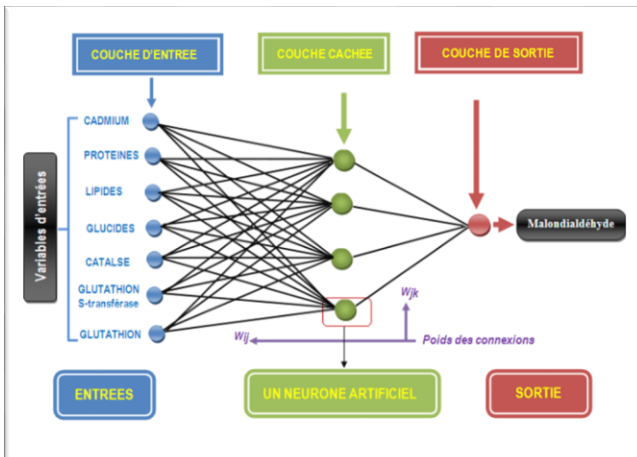


Figure 2 : Architecture du modèle RNA à trois couches utilisées dans cette étude

Choix des critères d'exécution

Les données des paramètres d'évaluation du stress oxydatif obtenues au Laboratoire de Toxicologie Cellulaire, de l'université Badji Mokhtar Annaba ont été employées pour créer le modèle du RNA en utilisant le logiciel STATISTICA neural network version 4.0.

Les paramètres d'évaluation du stress oxydatif incluent : Le Cd (générateur de stress), le taux de protéines, le taux de

glucides, le taux de lipides, la catalase, l'activité glutathion S-transférase (GST) ainsi que le taux de glutathion (GSH). Ces paramètres qui représentent l'évaluation du stress oxydatif sont considérés comme variables d'entrée (**Input**) tandis que la variable de sortie (**Output**) d'estimation du stress est le taux d'accumulation de malondialdéhyde (MDA).

Les paramètres statistiques utilisés dans ce travail sont : L'erreur moyenne des carrée RMSE (**Root Mean Square Error**), et le coefficient de détermination R^2 . Ces paramètres sont donnés par les relations suivantes :

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (MDA_i - \hat{MDA}_i)^2}{N}}$$

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^N (MDA_i - MDA_t)^2}{\sum_{i=1}^N (MDA_i - \overline{MDA_i})^2}$$

Où MDA_i est la valeur mesurée du taux d'accumulation de malondialdéhyde (MDA) , \hat{MDA}_i est le taux d'accumulation de malondialdéhyde (MDA) par le modèle, MDA_t est la moyenne du taux d'accumulation de malondialdéhyde (MDA) et N le nombre de données de l'ensemble de calage.

R^2 montre la variation de la valeur du taux d'accumulation de malondialdéhyde (MDA) et calculée ou estimée par le modèle de la régression linéaire.

En outre, le RMSE a été employé pour comparer l'exécution de MLP à d'autres types communs du RNA comprenant le RBF, le GRNN et linéaire.

Création du modèle

Dans ce travail, un réseau de Perceptron multicouche a été choisi comme modèle du système où le réseau traite un vecteur d'entrée se composant des variables comprenant : protéines, glucides, lipides, catalase, GST et GSH. Ce vecteur d'entrée produit d'un vecteur d'estimation (sortie) qui est le taux d'accumulation de malondialdéhyde (MDA). Le réseau de MLP peut être représenté par la forme compacte suivante :

$$MDA = ANN [protéines, glucides, lipides, catalase, GST et GSH....].$$

Un schéma de ce réseau est donné sur la figure 3. Il montre une structure typique avec des signaux qui découlent des nœuds d'entrée, traversant les nœuds cachés, atteignant par la suite le nœud de sortie. La couche d'entrée

n'est pas vraiment neurale: ces nœuds servent simplement à présenter les valeurs normalisées des variables d'entrée à la couche cachée voisine sans n'importe quelle transformation. Les nœuds des différentes couches cachées, de sortie et même d'entrée sont reliés entre eux. Cependant, les nœuds dans chaque couche ne sont pas reliés.

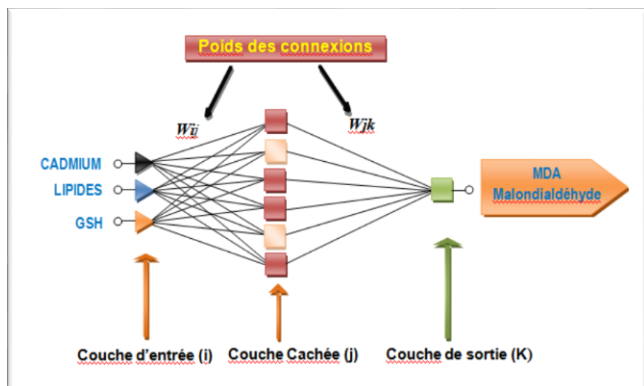


Figure 3 : Illustration du réseau à 3 couches (MLP)

Un poids numérique est associé à chacun de raccordements d'entre- nœud. Le poids de W_{ij} représente la force des raccordements des nœuds entre l'entrée et la couche cachée tandis que W_{jk} représente la force des raccordements des nœuds entre la couche cachée et de sortie. Chaque nœud caché (j) reçoit des signaux de chaque nœud d'entrée (i) qui porte des valeurs standard (X_i) d'une variable d'entrée. Chaque signal vient à travers une connexion à un poids (W_{ij}).

Le signal entrant net reçu par un nœud caché (Net_j) est la somme de poids des signaux entrants, X_i , et les poids correspondants (W_{ij}), plus une constante reflétant la valeur seuil de nœud (TH_j).

$$Net_j = \sum_{i=1}^n \overline{X_i} W_{ij} + TH_j$$

Le signal net dans un nœud caché (Net_j) est transféré de sa part à un nœud de sortie (O_j) en utilisant une fonction de transfert non linéaire (f) de type sigmoïde, donné par l'équation suivante:

$$O_j = f(Net) = \frac{1}{1 + e^{-Net}}$$

O_j passe comme signal au nœud de sortie (k). Les signaux nets d'un nœud de sortie (Net_k)

$$Net_k = \sum_{i=1}^n O_j W_{jk} + TH_k$$

Les signaux nets d'un nœud de sortie (Net_k) sont transformés en utilisant une fonction de type sigmoïde à un résultat standard ou de mesure (ok) qui est : OK : standard pour produire le résultat de sortie

$$OK = \overline{OK} (O_{\max}(k) - O_{\min}(k)) + O_{\min}(k)$$

La fonction sigmoïde devrait être continue, différentiable et limitée entre un intervalle de $(0, 1)$ [9].

Calibrage et vérification du modèle

La vérification a été employée pendant l'arrêt des critères de détermination du nombre optimal de nœuds de la couche cachée [20] tout en évitant l'excès dans l'apprentissage [21]. La vérification en travers est une technique utilisée généralement en modèles d'ANN, elle a prouvé un impact significatif sur la division des données [22]. Cette technique vise à former le réseau en utilisant un ensemble de données, et à comparer la performance par rapport à un modèle vérifié non utilisé dans l'apprentissage. Ceci examine la capacité du réseau de généraliser correctement sur l'ensemble des données en observant si l'erreur de vérification est raisonnablement basse.

L'apprentissage sera arrêté quand l'erreur de vérification commence à augmenter [23]. Le Modèle a été divisé en sous-ensembles, un pour le calibrage (apprentissage), un pour la vérification en travers du réseau et un pour l'essai (validation). Cinquante pour cent des données ont été choisis pour la formation, 25% pour la vérification et les 25% restant pour examiner la validité de la prévision de réseau.

Détermination des modèles d'entrées

Les modèles d'ANN ont la capacité de déterminer quelles entrées sont critiques. Ils sont utiles principalement pour des problèmes complexes où le nombre d'entrées est grand où aucune connaissance *a priori* n'est disponible pour déterminer les entrées appropriées [24].

Dans ce travail, une analyse de sensibilité a été effectuée pour identifier l'importance des variables d'entrée. Ceci a indiqué quelles variables sont considérées les plus utiles pour être maintenues par le modèle RNA.

Les modèles RNA ont également la capacité d'éliminer les variables de basse sensibilité (c'est-à-dire qui n'ont aucun effet significatif sur l'exactitude du modèle).

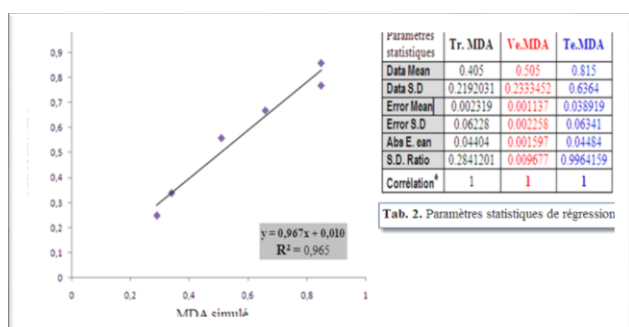
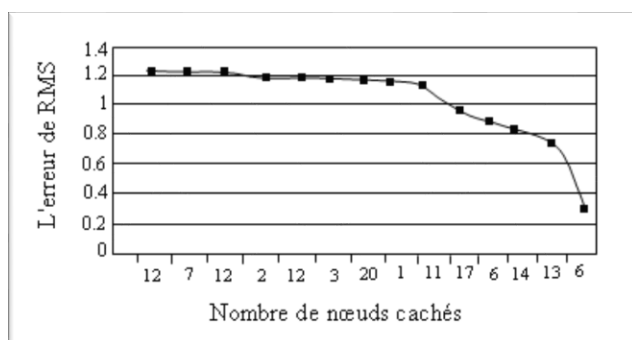
RESULTATS ET DISCUSSION

Les types de réseaux considérés sont : MLP (3 et 4 couches), RBF, GRNN, et linéaire. Pendant l'analyse, 697 réseaux ont été examinés. Le meilleur modèle optimal du RNA trouvé est le MLP (3 couches) avec 6 nœuds cachés (figure 3). L'erreur minimale est de 0.00196 comparé aux autres types de réseaux RNA (tableau 2).

Tableau 2 : L'erreur RMS dans différents réseaux de neurones.

| Type de réseau | Erreur (RMS) |
|-----------------|--------------|
| GRNN | 0.135 |
| RBF | 0.07488 |
| Linear | 0.03109 |
| MLP (4 couches) | 0.004893 |
| MLP (3 couches) | 0.00196* |

La figure 6 illustre le diagramme de données de MDA simulés pour les trois phases de modélisation respectivement l'apprentissage, le test et la validation. La droite de points est répartie statistiquement selon une orientation de 45° (autour de la droite $y = x$). Les résultats obtenus montrent une très bonne concordance expliquée par un coefficient de corrélation élevé pour la phase d'apprentissage, la phase de test et la phase de validation. Ce qui indique que ces résultats sont très satisfaisants.

**Figure 6.** Corrélation entre MDA simulé et mesuré.**Figure 7 :** Erreur RMS avec nombre de nœuds cachés

La figure 7 montre l'erreur dans le modèle d'apprentissage pour les cas indépendants. Elle représente graphiquement l'erreur de RMS du réseau pendant les itérations de l'apprentissage. En outre, elle trace les lignes séparées pour l'erreur de RMS sur les sous-ensembles de formation et de vérification des cas indépendants après la dernière itération de l'apprentissage. Le graphique indique que la gamme de l'erreur de RMS pour l'apprentissage et la vérification est petite. L'analyse de sensibilité du RNA des variables de stress oxydatif de l'apprentissage et de vérification (fig.3) indique que le cadmium, le taux des

lipides ainsi que GSH sont les facteurs les plus importants influençant le taux d'accumulation de malondialdéhyde (MDA).

CONCLUSION

Les résultats obtenus dans cette étude indiquent que les réseaux de MLP s'avèrent être la meilleure structure du RNA pour modéliser et prévoir l'interaction des éléments influençant l'évaluation du stress oxydatif.

L'originalité de ce travail de modélisation réside dans l'utilisation des réseaux neuronaux (approche connexionniste) qui sont fondés sur des modèles qui tentent d'établir des relations entre les paramètres d'entrée et de sortie par interconnexions des neurones. Le recours à ces méthodes neuronales complexes constitue donc une alternative pleinement justifiée et privilégiée dans le domaine d'utilisation des indices biologiques (biomarqueurs) pour la surveillance de la qualité de l'environnement et l'amélioration de la prédiction d'un risque.

Actuellement, il n'existe aucun moyen de prédire la survenue d'un stress oxydatif. Cependant, certains biomarqueurs, et notamment le taux d'accumulation de malondialdéhyde (MDA), semblent être le candidat prometteur.

Cet outil pronostique peut être une alternative attrayante à la statistique conventionnelle, car il apporte une façon simple de comprendre les réponses biologiques, tant pour le modèle biologique que pour le biomarqueur. Il pourrait également aboutir à une amélioration de la précision des bioessais et en rapportant des effets d'options sélectives des protocoles expérimentaux, il pourrait également influencer le choix des indices biologiques conventionnels du stress oxydatif.

REFERENCES

- [1]- Calderon-Macias C, Sen M.K, Stoffa P.L, Artificial neural networks for parameter estimation in geophysics, Geophys. Prospect. 48 (2000).pp 21-47.
- [2]- Dowla F.U, Rogers L.L, Solving problems in environmental engineering and geosciences with neural networks, MIT Press, Cambridge, UK. (1995). pp 240.
- [3]- Das, N., Levine, R. L., Orr, W. C. and Sohal, R. S. Selectivity of protein oxidative damage during aging in *Drosophila melanogaster*. Biochem. J. 360, (2001). pp 209-216.
- [4]- Almeida JA, Diniz YS, Marques SFG. The use of the oxidative stress responses as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination. Environment International 27. (2002). pp 673-679.

- [5]- Bonneris E, Perceval O, Masson S, Hare L, Campbell PGC. Sub-cellular partitioning of Cd, Cu and Zn in tissues of indigenous unionid bivalves living along a metal exposure gradient and links to metal-induced effects. *Environ. Poll.* 135. (2005). pp 195-208.
- [6]- Geret F, Serafim A, Barreira L, Bebianno MJ.. Effect of cadmium on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the gills of the clam *Ruditapes decussatus*. *Biomarkers* 7. (2002). 242-256.
- [7]- Lagadig, L, Cadet, T, Amiard, J.C, Ramade, F.. Biomarqueurs en ecotoxicologie : aspects fondamentaux. Masson.(1997). 419 pages.
- [8]- Hagger, j, Jones, M, Lowe, D, Leonard, D.R.P., Owen, R., Galloway, T. Application of biomarkers for improving risk assessments of chemicals under the Water Framework Directive: A case study, *Marine Pollution Bulletin*, vol. 56. (2008).pp. 1111-1118.
- [9]- Forbes, v., Palmqvist, A., Bach, L., 2006, The use and misuse of biomarkers in ecotoxicology, *Environmental Toxicology & Chemistry*, vol. 25.(2006). pp . 272-280.
- [10]- Barthet L. Contribution à l'évaluation de l'impact sur les écosystèmes de la valorisation de résidus de procédés thermiques en BTP. Thèse de Doctorat. Institut national des sciences appliquées de Lyon, France, (2003). 218 pages.
- [11]- Haubenstricker M.E, Meier P.G. , Mancy K.H. Rapid toxicity testing based on yeast respiratory activity. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* vol 44.(1990). pp 669-674.
- [12]- McCulloch, W.S. Pitts, W. A logical Calculus of the Ideas Imminent in Nervous Activity. *Bulletin of Mathematical Biophysics.* vol 5.(1943). pp. 115-133.
- [13]- Fortin, V, Ouarda, T., Rasmussen, T.P, Bobée, B. Revue bibliographique des méthodes de prévision des débits. *Revue des Sciences de l'Eau.* vol 4.(1997). pp. 461-487.
- [14]- Hecht-Nielsen, R. *Neuro-computing*, Addison-Wesley, Reading, Massachusetts, USA. Solution for a distributed hydrological model and applications.(1990). pp. 89-93.
- [15]- Lippmann R.P. An Introduction to Computing with Neural Nets. *IEEE ASSP Magazine.*vol 4. (1987). pp 4-22.
- [16]- Najjar Y, Ali H. On the Use of BPNN in Liquefaction Potential Assessment Tasks. *Artificial Intelligence and Mathematical Methods in Pavement and Geomechanical Systems*, Atttoh-Okine (Editor). Vol. 75. (1998a). pp. 55-63.
- [17]- Najjar Y, Ali H. CPT-Based Liquefaction Potential Assessment : A Neuronet Approach. *ASCE Geotechnical Special Publication No.75*, Dakoulas, P. et. Al. (Editors), (1) : (1998b). pp. 542-553.
- [18]- Najjar Y, Zhang, X. Characterizing the 3D Stress-Strain Behavior of sandy Soils: A Neuro-Mechanistic Approach. *ASCE Geotechnical Special Publication*. Filz, G. and Griffiths, D. (Editors) vol. 96. (2000). pp. 43-57.
- [19]- Riad S, Mania J, Bouchaou, L, Najjar, Y. Modélisation de la relation pluie-débit par les réseaux de neurones artificiels (RNA ou ANN) : Application a un bassin versant en zone semi-aride (Maroc). Colloque international sur l'Hydrologie des régions méditerranéennes et semi-arides. Montpellier, France.(2003).
- [20]- Braddock, R.D., Kremmer, M.L. and Sanzogni, L. Feed-forward artificial neural network model for forecasting rainfall run-off. *Proceedings international congress on modelling and simulation (Modsim)*. The modelling and simulation society of Australia Inc., Hobart, Australia,pp. (1997).pp1653-1658.
- [21]- Campolo M, Andreussi P, Soldati A. River flood forecasting with a neural network model. *Water Resources Research.*vol 35.(1999). 1191-1197.
- [22]- Burden, F.R., R.G. Brereton, P.T. Walsh. Cross-validatory selection of test and validation sets in multivariate calibration and neural networks as applied to spectroscopy. *Analyst* 122. Vol. 10. (1997). pp.1015-1022.
- [23]- Lallehem S , Mania, J. A. linear and non-linear rainfall-runoff model using neural network technique : Example in fractured porous media. *Journal of Mathematical and Computer Modelling.* N°1, Vol. 55, N° 615.(2002).
- [24]- Lachtermacher, G., Fuller, J.D. Backpropagation in hydrological time series forecasting. In : K. W. Hipel, A.I. MacLeod, U.S. Panu & V. P. Singh (eds), *Stochastic and statistical methods in hydrology and environmental engineering*, Vol. 3.(1994). pp. 229-242.