



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Larbi Tébessi-Tébessa

Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie

Département de biologie Appliquée

Mémoire de fin d'étude présenté pour l'obtention du diplôme de Master.

Domaine: Sciences de la nature et de la vie

Filière: Sciences biologiques

Option: Pharmaco-Toxicologie

Thème:

Pneumotoxicité de Lambda Cyhalothrine chez les rats *Wistar* et l'effet opposé de *Melissa officinalis*

Présenté par:

M^{elle}. Azzouz Hend

M^{elle}. Djareche Lamia

Devant le jury:

Dr. AMMAMRA Rima

M.C.B. U.L.T. Tébessa Présidente

Perf. ROUABHI Rachid

Prof. U.L.T. Tébessa Rapporteur

Dr. GASMI Salim

M.A.B U.L.T. Tébessa Examineur

Date de soutenance: 17/06/2019

Note :..... Mention :.....

لامدا سيهالوترين هو مبيد حشري من عائلة البيريثرويد ويعتبر إضافة جديدة بين الفعالية والسمية. يتعلق هذا العمل بتقييم السمية المحتملة لمبيد لامدا سيهالوترين وتأثير وقائي لنبته الطبية ميليسا أوفيسيناليس على رثتي جردان ويستار المناسبة بشكل مثالي لدراسة السمية.

وقد قمنا بتعريض الجردان إلى الجرعات 05 ملغ/كغ/يوم و 10 ملغ/كغ/يوم من لامدا سيهالوترين و 10 ملغ/كغ/يوم من مستخلص النبتة الطبية ميليسا أوفيسينال لمدة ثلاثة أشهر من العلاج.

تظهر نتائجنا الدراسة التي قمنا بها أن لامدا سيهالوترين يؤدي إلى انخفاض في مستوى نمو الجردان وأن إضافة مستخلص النبتة ميليسا أوفيسيناليس يؤدي إلى تصحيح هذا الخلل بالمقارنة مع الفئران الشاهدة.

و كذلك تشير دراسة عوامل الإجهاد التأكسدي في كمية GSH والنشاط الأنزيمي لأنزيمات CAT و GPx وزيادة في كمية MDA ونشاط GST في الجردان التي عولجت باستخدام لامدا سيالوترين مقارنة بالجرذان الشاهدة.

من خلال هذه الدراسة نستخلص أن التعرض لامدا سيهالوترين له تأثير على المؤشرات المذكورة سابقا وقد أدى مستخلص النبتة الطبية ميليسا أوفيسيناليس إلى تحسين معظم المؤشرات الحيوية والإنزيمات التي تمت دراستها.

الكلمات المفتاحية: لامدا سيهالوترين، ميليسا أوفيسينا ليهس، فئران ويستار، الإجهاد التأكسدي.

Lambda cyhalothrin is a pyrethroid insecticide and is considered a good addition between efficacy and toxicity.

This work concerns the evaluation of the potential toxicity of lambda cyhalothrin pesticides and the protective effect of *Melissa officinalis* on the lungs of Wistar rats that are ideally suited to toxicological studies.

The rats were exposed to Lambda cyhalothrin doses of (5 mg / kg / day and 10 mg / kg / day) and 10 mg / kg / day of *Melissa officinalis* for 3 months of treatment.

The results of this study this present work show that lambda cyhalothrin causes a decrease in the relative weight of the lungs of rats and after addition the extract of melissa officinalis corrected this toxic effect in comparison by the control rats.

The study of oxidative stress parameters indicates a decrease in GSH levels, and the enzymatic activity of CAT and GPx enzymes and an increase in MDA level, GST enzyme activity in rats treated with Lambda cyhalothrin compared to rats. witnesses, and the supplementation of melissa officinalis improved this disturbance.

The present study has shown that exposure to lambda cyhalothrin has toxic effects at the previously mentioned parameters, supplementation of melissa officinalis at 10 mg / kg / day has improved most of the biochemical and enzymatic parameters studied.

Key words: lambda cyhalothrin, *Melissa officinalis*, Wistar rats, oxidative stress.

Lambda cyhalothrine est un insecticide à base de pyréthrianoïde qui est considéré comme un bon additif entre l'efficacité et la toxicité.

Ce travail concerne l'évaluation de la toxicité potentielle des pesticides de lambda cyhalothrine et l'effet protecteur de *Melissa officinalis* sur les poumons des rats *Wistar* qui sont parfaitement adaptés aux études toxicologiques.

Les rats ont été exposés aux doses de Lambda cyhalothrine de (5mg/kg/j et 10mg/kg/j) et 10mg/kg/j de *Melissa officinalis* pendant 3 mois de traitement.

Les résultats de cette étude ce travail présent montrent que la lambda cyhalothrin provoque une diminution sur le poids relatif des poumons des rats et après l'addition l'extrait de *melissa officinalis* corrigé cet effet toxique en comparé par les rats témoins.

L'étude des paramètres de stress oxydatif indique une diminution des taux de GSH, et l'activité enzymatique des enzymes CAT et GPx et une augmentation au taux MDA, l'activité de l'enzyme GST chez les rats traités par Lambda cyhalothrine par rapport aux rats témoins, et la supplémentation de *melissa officinalis* amélioré cette perturbation.

La présente étude a montré que l'exposition au lambda cyhalothrin à des effets toxiques au niveau des paramètres mentionnés précédemment, la supplémentation de *melissa officinalis* à 10 mg/Kg/jour a amélioré la plupart des paramètres biochimiques et enzymatiques étudiés.

Mots clés: lambda cyhalothrin, *Melissa officinalis*, Rats *Wistar*, stress oxydatif.

Remerciement

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au sein du Laboratoire de Toxicologie, Département de biologie, Université de Tébessa.

Au terme de ce travail, nous remercions Allah, le bon Dieu miséricordieux de nous avoir aidés à réaliser ce travail.

*Je tiens tout particulièrement à exprimer mes plus vifs remerciements et ma profonde Gratitude à mon encadreur M. **Rouabhi Rachid**, professeur à l'université de Tébessa, et le doyen de la faculté de sciences.*

Qui m'a fait l'honneur d'assurer la direction de ce travail, et qui a su faire preuve de patience, et pour sa disponibilité et nombreux conseils dans toute les cas et toute les domaines, me permettant ainsi de mener à bien cette étude se passe dans les meilleures conditions possibles. Merci monsieur pour sa présence, pour sa patience, ses précieux conseils, le suivi, l'orientation et pour sa confiance.

*Nous tenons à remercier les membres du jury notre présidente (**Amamra R**). Et notre examinateur (**Gasmi salim**). Qui nous fait l'honneur de juger ce travail de mémoire.*

*On souhaitera aussi adresser nos gratitudes à tous nos enseignants pour l'accompagnement et le savoir transmis tout au long de notre parcours universitaire, nous exprimons aussi toutes mes gratitudes à **M. gasmi salim** pour s'être pleinement investi à la réalisation de ce travail et sacrifié de son temps pour répondre à nos nombreuses questions, pour ses encouragements et ses nombreux conseils.*

Nous remercions amicalement nos collègues et mes amis, grand remerciement pour la promo de toxicologie spécialement la classe de pharmacotoxicologie.

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail



Tableaux des Abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
BPCO	Broncho-pneumopathie chronique obstructive
CAT	Catalase
CDNB	1-Chloro2,4-dinitrobenzène
Cm³	Centimètre cube
Cyt	Cytochrome
DTNB	Acide 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoïque ou réactif d'Ellman).
EDTA	Acide Ethylène-Diamine-Tétraacétique
EM	Extrait de <i>Melissa Officinalis</i>
EOA	Espèces Oxygénées Actives
ERO	Espèces Réactives de l'Oxygène
Fe	Fer
GABA	Acide gamma-aminobutyrique
GPx	Glutathione peroxydase
GSH	Glutathione réduit
GSSG	Glutathione oxydée
GST	Glutathione-S-transférase
H	Hydrogène
H⁺	Proton
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
L	Radical libre lipidique
LCT	Lambda cyhalothrine
MDA	Acide Malondialdéhyde
NADPH	Nicotinamide-adeninedinucleotide-phosphate réduit.
O^{2•-}	Radical superoxyde (anion superoxyde)
OH[•]	Radical hydroxyle
RO[•]	Alkoxy.
ROO[•]	radicaux peroxyde
ROS	Reactive Oxygen Species
SOD	Super oxyde-dismutase
T	Témoin
TCA	acide tri chloro-acétique
TP	tampon d'extraction

Figure N°	Titre de figure	Page N°
01	Structure chimique de la lambda cyhalothrine	04
02	Rapport surface alvéolaire –poids chez les mammifères	09
03	Poumon en toxicologie	10
04	Produit d'oxydation induits par les radicaux hydroxy de la fraction thymine da l'ADN et composés modèles dans un solution aérée	14
05	principales voies de décomposition induites par la fraction guanine (17) de l'ADN et composés modèles en solution aqueuse aérée	16
06	les voies de la peroxydation lipidique	18
07	<i>Melissa officinalis</i>	24
08	Feuilles et fleurs de <i>Mélisse Officinalis</i>	26
09	Rats males de la souche <i>Wistar</i>	32
10	Conditions d'élevage des rats	34
11	Protocole expérimental	36
12	Prélèvement de poumon des rats	37
13	évaluation des poids relatif du poumon chez les rats .	44
14	Variation du taux de MDA pulmonaire chez les rats.	45
15	Variation de teneur pulmonaire en GSH pulmonaire chez les rats.	46
16	Activité enzymatique de GPx pulmonaire chez les rats.	47
17	Activité enzymatique de GST pulmonaire chez les rats.	48
18	Activité enzymatique de CAT pulmonaire chez les rats.	49

Tableau N°	Titre de tableaux	Page N°
01	Propriété physique, chimique et environnements de lambda cyhalothrine.	04
02	Variation de poids relative de poumon chez les différents groupes expérimentaux	44
03	Taux de MDA pulmonaire des rats dans les différents groupes expérimentaux	45
04	Taux de GSH pulmonaire des rats dans les différents groupes expérimentaux.	46
05	activité enzymatique de GPx pulmonaire des rats dans les différents groupes expérimentaux.	47
06	activité enzymatique de GST pulmonaire des rats dans les différents groupes expérimentaux.	48
07	activité enzymatique de CAT pulmonaire des rats dans les différents groupes expérimentaux.	49

ملخص

Abstract

Résumé

Remerciement

Dédicace

Liste des abréviations

Teste des Figure

Liste des Tableaux

Introduction

Partie bibliographique

Chapitre I : Pesticides

1. Généralités sur les pesticides.....	03
1.1. Définition.....	03
1.2. Utilisation.....	03
2. pyréthrinoides.....	03
2.1. Généralités.....	03
2.2. Exemple sur les pyréthrinoides: Lambda cyhalothrine	04
2.3. Propriété	04
2.4. Utilisation.....	05
2.5. Toxicocinétique	05
2.6. Toxicodynamique.....	06
2.7. Toxicité	07

Chapitre II: le système respiratoire 08

1. Généralités sur Le système respiratoire.....	09
1.1. Anatomie.....	09
1.2. Pathologie respiratoire.....	10
2. Le stress oxydant.....	11
2.1. Espèce réactif de l'oxygène (ERO).....	12
2.2. Réactions de la formation de radicaux libres	12
2.3. Effet des radicaux libers sur l'organisme.....	12
2.3.1. Dommage d'ADN.....	12
2.3.2. Peroxydation des protéines.....	17
2.3.3. Peroxydation lipidique.....	17
2.4. Antioxydants.....	18

2.4.1.	Système antioxydant enzymatique	19
2.4.1.1.	Superoxyde dismutase	19
2.4.1.2.	Glutathion peroxydase (GPx)	19
2.4.1.3.	Catalase (CAT).....	19
2.4.1.4.	Peroxyredoxines.....	19
2.4.2.	Système antioxydant non enzymatique.....	20
2.4.2.1.	Glutathion (GSH).....	20
2.4.2.2.	La vitamine E (α -tocophérol)	20
2.4.2.3.	La vitamine C	21
2.4.2.4.	Oligo-élément	21
2.4.2.5.	Le polyphénol	21

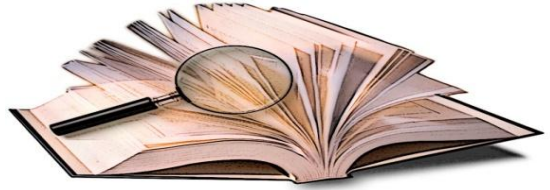
Chapitre III: *La Melissa Officinalis*

1.	Généralité sur <i>la Melissa Officinalis</i>	24
2.	Classification	25
3.	Description.....	25
3.1.	Les tiges.....	25
3.2.	La feuille.....	26
3.3.	La fleur	26
4.	Composition chimique.....	27
4.1.	l'huile essentielle.....	27
4.2.	polyphénol.....	27
4.2.1.	Les flavonoïdes.....	28
4.2.2.	Acide phénolique.....	28
4.3.	Composés divers	28
5.	Utilisation.....	28
6.	Utilisation médicinales	29

Partie Pratique: Matériels et Méthodes

1.	Matériel.....	32
1.1.	Matériel Biologique.....	32
1.1.1.	Classification.....	32
1.1.2.	Utilisation en recherche.....	32
1.2.	Produits chimique.....	33
2.	Méthodologie.....	34
2.1.	Entretien des animaux.....	34

2.2.	Choix des doses.....	34
2.3.	Lotissement et traitement.....	35
2.4.	Sacrifice et prélèvement des poumons.....	38
2.5.	Evaluation des paramètres de stress oxydatif	39
2.5.1.	Evaluation des Biomarqueurs non enzymatiques.....	39
2.5.1.1.	Evaluation du glutathion (GSH).....	39
2.5.1.2.	Evaluation du malondialdéhyde MDA.....	40
2.5.2.	Biomarqueurs enzymatiques	40
2.5.2.1.	Evaluation de glutathion peroxydase (GPx)	40
2.5.2.2.	Evaluation de l'activité de glutathion S-Transférase (GST).....	41
2.5.2.3.	Evaluation de l'activité enzymatique de la Catalase (CAT).....	42
2.5.3.	Analyses statistique.....	42
3.	Résultats	43
3.1.	Effet du Lambda cyhalothrine et l'extrait de la <i>Melissa officinalis</i> sur le poids relatif du poumon.....	44
3.2.	Effet du Lambda Cyhalothrine et l'extraite la <i>Melissa Officinalis</i> sur les paramètres de stress dans les poumons chez les rats.....	45
3.2.1.	Effet sur les paramètres non enzymatiques.....	45
3.2.1.1.	Effet sur la teneur en MDA.....	45
3.2.2.	Effet sur le taux de GSH.....	46
3.2.2.1.	Effet sur les paramètres enzymatiques.....	47
3.2.2.2.	Effet sur l'activité de GPx.....	47
3.2.2.3.	Effet sur l'activité de GST.....	48
3.2.2.4.	Effet sur l'activité de CAT.....	49
4.	Discussion.....	51
	Conclusion et perspectives.....	55
	Référence Bibliographique	



Introduction

Au niveau mondial, l'expansion de l'usage des pesticides continue à s'effectuer de puis plus d'un demi-siècle. En effet, la croissance de leur utilisation dans le tiers-monde compense une certaine régression de leur consommation (en tonnage) dans les pays développés. **(Ramade, 2005).**

Selon les études l'observatoire Régional de Santé en France (ORS), les conclusions de 150 études réalisées dans 61 pays sur les concentrations des pesticides dans le corps humain en cas d'atteinte, on retrouve les métabolites des pesticides et leurs dérivés dans les tissus adipeux, le cerveau, le sang, le foie et même dans le lait maternel, **(De Bretagne, 2011)**

Les pesticides sont des composant utilisé contre des organismes nuisibles (animaux, végétaux, champignons), ils peuvent être classé selon leurs cibles principaux : les herbicides ou désherbants, les fongicides (contre les champignons), les insecticides ou produits antiparasitaires, les acaricides, les rodenticides (contre les petits rongeurs), les nématicides (contre les vers), les molluscicides (limaces).

On a plusieurs formes des produits commerciaux contenant des pesticides (liquides, poudres, granulés, gels de contact, fumigènes) et selon différents condition : bidons, sacs, sprays, pièges, plaquettes.

L'exposition aux pesticides peut se produire par deux façon : directement dans le cadre de leur fabrication ou de leurs utilisations professionnelles ou domestiques, mais aussi indirectement par l'air, le contact de surfaces contaminées ou la consommation des eaux et denrées alimentaires. Selon les circonstances, ce sont soit des populations soit la population générale qui sera concernées professionnellement exposées, et ces substances pénètrent dans l'organisme par trois voies : la voie cutanée, la voie digestive (ou orale) et la voie respiratoire.

Généralement, la voie la plus importante c'est la voie orale, elle est due à l'ingestion d'aliments et à l'ingestion non alimentaire (poussières). **(Baldi et al., 2013)**

Les pyréthrinoides sont des insecticides, des analogues synthétiques des pyréthrines, qui sont des substances naturelles trouvées dans les fleurs de chrysanthème.

Ils sont très solubles dans les graisses et instables chimiquement, et sont regroupé en deux classe pyréthrinoides de type I et de type II.

Lambda cyhalothrine est un insecticide à base de pyréthrinoides II la plus utilisé dans le monde est induite l'induction de formation de radicaux libres et l'altération des systèmes de défense antioxydants **(Anadon et al, 2006).**

Melissa officinalis est une plante herbacée vivace de famille des Lamiacées. Son nom vient du grec *melissophullon* qui signifie (feuille à abeilles), il dit aussi *mélisse citronnelle* ou *simplement citronnelle*, à ne pas confondre avec la citronnelle (*Cymbopogon citratus*), Plante

originaires de l'est du bassin méditerranéen, qui s'est répandue dans toute l'Europe dès l'Antiquité. Les Romains l'introduisirent en Grande-Bretagne, elle utilisée en plusieurs domaines. (Hans, 2007).

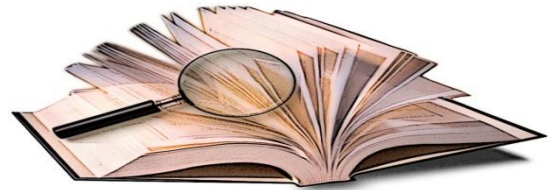
Le but du présent travail est d'évaluer la pneumotoxicité de lambda cyhalothrine en utilisant un modèle animal, le rat *Wistar* élevé au niveau de l'animalerie du département de biologie de l'université de Tébessa et l'effet opposé de *Melissa officinalis*.

Les objectifs de ce travail sont les suivants :

- Déterminer l'effet toxique de lambda cyhalothrin sur les poumons.
- Déterminer quelques paramètres de stress oxydatif : (MDA, GSH, GST, CAT).
- Déterminer l'effet protecteur de *Melissa officinalis* sur la toxicité de lambda cyhalothrine.

Partie

Bibliographique



Chapitre I: Pesticides

1. Généralités sur les pesticides

1.1. Définition

Les pesticides sont des substances chimiques dans l'agriculture et dans plusieurs domaines pour des cultures, des produits agricoles ou bien pour protégé les êtres humains contre les insectes, les végétaux, les animaux .ces produits provoque la contamination de l'air, du sol de l'eau et des produits alimentaire (**Gasmi, 2018**).

1.2. Utilisation

Les différentes utilisations des pesticides :

- utilisé principalement pour la protection des cultures.
 - protections des végétaux ou les produits végétaux contre tous les organismes nuisibles.
 - assurer la conservation des produits végétaux.
 - détruire les végétaux indésirables.
 - possède un rôle antiparasitaires et agropharmacétique.
 - permettent de combattre la prolifération des maladies de plantes provoquée par des champignons ou des bactéries.
 - Utilisé pour la protection des plantes contre les insectes.
 - utilisé contre les rougeurs et les taupes.
 - destruction des champignons pathogène.
 - utilisation vétérinaire.
- (Effets métaboliques d'un régime à base de purée de pomme de terre contaminée par les pesticides) (**Benziane, 2014**).

2. pyréthrinoides

2.1. Généralités

Les pyréthrinoides sont des composants utilisé en agriculture et dans la santé (**Anadon et al., 2006**), et ces composants sont des analogue de pyréthrine naturelle (**Celik et al., 2004**).

Les pyréthrinoides regroupés en deux grandes types selon la présence et l'absence d'un fragment de cyano, les pyréthrinoides de type I, par exemples (l'alléthrine, la perméthrine), qui est caractérisé par l'absence de fragment de cyano, et le type II par exemple :(deltaméthrine et lambda cyhalothrine) qui est caractérisé par la présence de fragment cyano sur le fragment phénoxybenzyle (**Anadon et al., 2006**).

2.2. Exemple sur les pyréthriinoïdes : Lambda cyhalothrine

Lambda cyhalothrine [-Cyano-3-phénoxybenzyle 3- (2-Chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-ényl) -2,2-diméthylecyclo propane carboxylate] est un insecticide à base de pyréthriinoïde II. cette pyréthriinoïde est la plus utilisé dans le monde (He et al., 2008) qui elle considéré comme une bonne additionnable entre l'efficacité et la toxicité (Anadon et al., 2006).

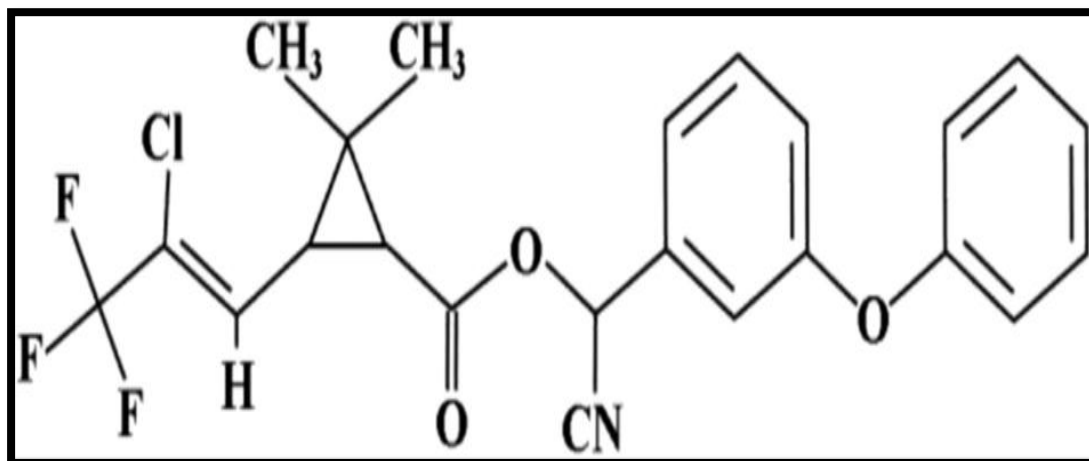


Figure 01. Structure chimique de lambda cyhalothrine (Anadon et al., 2006).

2.3. Propriété

Lambda cyhalothrine est caractérisée par les paramètres physicochimiques résumés dans le tableau 01 :

Tableau 01. Propriétés physiques, chimiques et environnementales de la lambda-cyhalothrine (He et al., 2008).

Formule moléculaire	C ₂₃ H ₁₉ ClF ₃ NO ₃
Poids moléculaire (g / mol)	449,9
Densité (g / mL à 25 C°)	1,33
Point de fusion (C°)	49,2
Point d'ébullition (C° à 0,2 mmHg)	187–190
Pression de vapeur (mPa à 20 C°)	0,0002
Hydrosolubilité (mg / L à 20 C°)	0,005
Solubilité dans d'autres solvants (p. Ex. Acétone) (mg / L)	> 500 000
Demi-vie d'hydrolyse (d)	
pH 5	Stable
pH 7	Stable
pH 9	8,66
Photolyse demi-vie (d)	

Eau à pH 5 et 25 ° C	24,5
Sol	53,7
Facteur de bioconcentration (FBC)	(poisson)
Adsorption dans le sol Koc (cm ³ / g)	247 000–330 000
Demi-vie de dégradation du sol (d)	
Sol aérobie	42,6
Demi-vie de dégradation aquatique (d)	
aquatique aérobie	21,9

2.4. Utilisation

La lambda cyhalothrine est l'insecticide le plus utilisé pour lutter contre les insectes, et utilisé aussi dans plusieurs domaines.

Chez les animaux, organismes nuisibles dans l'agriculture, la santé publique, les maisons et les jardins, En agriculture, les cultures cibles incluent le coton, les céréales, le houblon, plantes ornementales, pommes de terre et légumes, avec des applications visant à lutter contre les pucerons, les coléoptères, et ravageurs lépidoptères. Les pyréthroides sont des outils importants utilisés en public gestion de la santé où des applications sont faites pour contrôler les cafards, les moustiques, les tiques et les mouches, qui peuvent servir de vecteurs de maladies. Usage résidentiel des produits pyréthrinés a augmenté en raison de la suspension de produits organophosphorés contenant chlorpyrifos ou diazinon, mouches, poux, moustiques et tiques (He et al., 2008).

2.5. Toxicocinétique

-Absorption

Lambda cyhalothrine est une molécule lipophile (Anadon et al., 2006) et peu soluble dans l'eau, qui possède un alcool α - cyano 3- phénoxybenzylique et un groupe halogène dans la partie acide sont facilement absorbé par voie respiratoire (inhalation) et orale (tractus gastro-intestinal) (María et al., 2018).

- Distribution

La distribution du lambda cyhalothrine dans l'organisme est rapide (Anadon et al., 2006; Anadon et al., 2006).

Le cible principale d'accumulation de lambda cyhalothrine est les système nerveux (María et al., 2003; Anadon et al., 2006).

La plus grande distance trouvée pour l'hypothalamus environ 1.5 fois plus élevée que dans le plasma, et 1.3 fois plus élevée que dans le foie (Anadon et al., 2006).

- Métabolisme

Lambda cyhalothrine est oxyde par les CYT et hydrolyse par les estérases. Dans les microsome hépatique de rats traité oralement avec de la lambda cyhalothrine, une induction des enzymes hépatique CYP (CYP 1A, CYP 2E, CYP 2B).

Les CYP catalysent hydroxylation aromatique a divers positions notamment 4 et hydrolyse ou niveau gastro –intestinale par hydrolyse de liaison ester sous forme des fractions acide et alcool relativement non toxique. les toux des CYP et des carboxyl estérases à métabolisme de lambda cyhalothrine semble dépendant un groupe α - cyano(moins sensible à l'hydrolyse et plus sensible à l'oxydation) (**Anadon et al., 2006; María et al., 2018**).Les réactions de ces métabolique au niveau du foie, des reins et d'autres organes (**Anadon et al., 2006**).

- Elimination

Dans l'organisme, un taux de 7% de lambda cyhalothrine est éliminé sous forme inchangée. Chez les mammifères, la dose de lambda cyhalothrine par voie orale est excrétée sous forme de métabolite dans l'urine et les matières fécales dans quelque jour. Lambda cyhalothrine sont éliminés à partir de plasma avec un $T_{1/2}$ de 90h (**Anadon et al., 2008**).

2.5. Toxicodynamique

La cible principale de lambda cyhalothrine c'est les canaux sodiques de système nerveux. Chez les insectes et les mammifères, leurs effets principaux c'est l'activité répétitive (**Vijverberg et al., 1982; María et al.,2003**)

Donc chez les insectes et les mammifères les pyréthrinoides 2 provoquent une perturbation de tension sensible de fonction des canaux sodique, canaux chlorure et de calcium sont exactement touché parce qu'ils sont nécessaire pour la fonction nerveuse appropriée (**Anadon et al., 2006; He et al.,2008**).

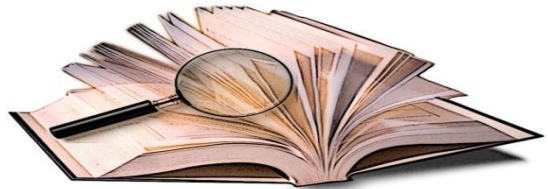
Cette perturbation de la fonction des canaux sodique pyréthriinoïde et stéréospécifique. Est une stéréospécificité marqué par l'action des canaux sodium et la lambda cyhalothrine possède un rôle de l'inhibition des canaux de sodium et donne l'ouverture des canaux des périodes longue, et provoque la bloc de polarisation.

Les pyréthriinoïde de type 2 possède un effet sur les canaux de chlorure dans le système nerveux. Leur effet c'est l'affection de potentiel dépendante de la tension des canaux. les nerfs, les tissu musculaire et les glandes saliver et sont modulé par la protéine Kinase qui contrôle l'excitabilité cellulaire, ce type de pyréthriinoïde provoque la diminution de l'inhibition sympathique c'est-à-dire la lambda cyhalothrine est un antagoniste de réception GABA (**María et al., 2003; Anadon et al., 2006**).

2.7. Toxicité

Les effets d'une exposition aigue par inhalation à des concentrations de l'ordre de quelques $\mu\text{g. m}^{-3}$ dans l'aire sont spécialement réversibles et sans gravité, mais dans des concentrations plus élevées de l'ordre du mg/m^3 il Ya des effets neurologiques sévères observés chez les Rats.

La toxicité chronique provoqué des effets cancérogènes et de perturbation endocriniennes, elle est moins connue les études montre qu'il Ya un effet sur les concentrations circulantes d'hormones sexuelle qui provoque une altération de la qualité du sperme et de la fertilité chez les rats ou les souris d'une exposition orale aux pyréthrinoides, aussi d'autre étude pratiqué sur la population générale montrent une association entre l'excrétion urinaire de métabolites de pyréthrinoides et une altération chez les sexes masculins de la qualité du sperme et de la concentration circulante en hormones sexuelles et thyroïdienne et des effets génotoxiques sur les spermatozoïdes (**Atsdr, 2003**).



Chapitre 2 : Généralités sur les pesticides

1. Généralités sur Le système respiratoire

système très important pour les fonctions de corps qu'il permettant les échanges gazeux (la respiration), l'organe fondamental de ce système c'est le poumons que est un organe se forme d'un simple sac, subdivisés par quelques replis qui en augmentent la surface et quant à lui beaucoup plus finement divisé en petit sacs élémentaires, les alvéoles qui augmente (la surface d'échange) sont nécessaire pour fournir la concentration élevée en O_2 requise par le métabolisme élevée qui accompagne l'homéothermie.

Le volume pulmonaire est de l'ordre de 6% du volume corporel. Le rôle principale de cette organe c'est les échanges gazeux (l'inspiration, l'expiration ...) (**Knut, 1998**)

En plus de sa fonction vitale dans les échanges d'oxygène et de dioxyde de carbone, l'appareil respiratoire régule les concentrations d'angiotensine, d'amine biogènes et de prostaglandines. Il permet aussi l'excrétion de toxique absorbé par les poumons ou d'autres voies, et par l'intermédiaire du système de métabolisation des xénobiotiques, boitransforme des toxiques, dont certains comme le paraquat et 4-ipoméanol génèrent des formes activées de l'oxygène et des époxydes susceptibles de provoquer des lésions cellulaires (**Frank, 1992**)

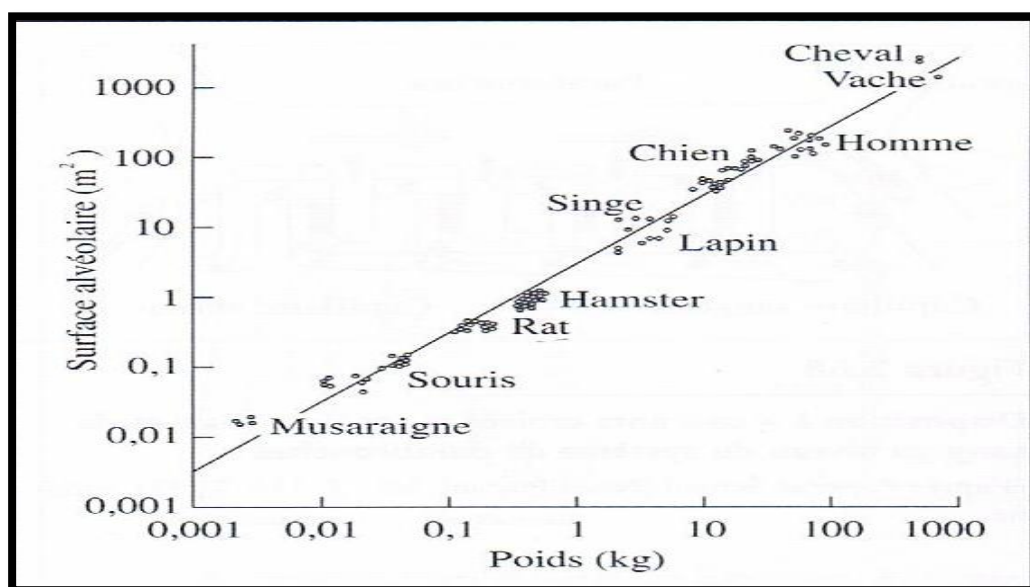


Figure 02. Rapport Surface alvéolaire – Poids chez les mammifères (**Raymond, 2006**).

1.1. Anatomie

Chez les mammifères, la bronche intra-pulmonaire se divise réglément en bronchioles de divers ordres se terminent dans un sac alvéolaires (figure: 3.G). Trachée, branches et bronchioles n'ont aucun rôle respiratoire elles sont couvertes d'un épithélium cilié et de cellule sécrétrices ; elles conduisent l'air au système alvéolaire constitué d'un enchevêtrement de canaux alvéolaire, d'alvéoles et capillaire sanguins (figure: 3.H à figure: 3.K), les alvéoles communiquent de plus entre elles par des pores alvéolaires (figure: 3.I). (**Raymond, 2006**).

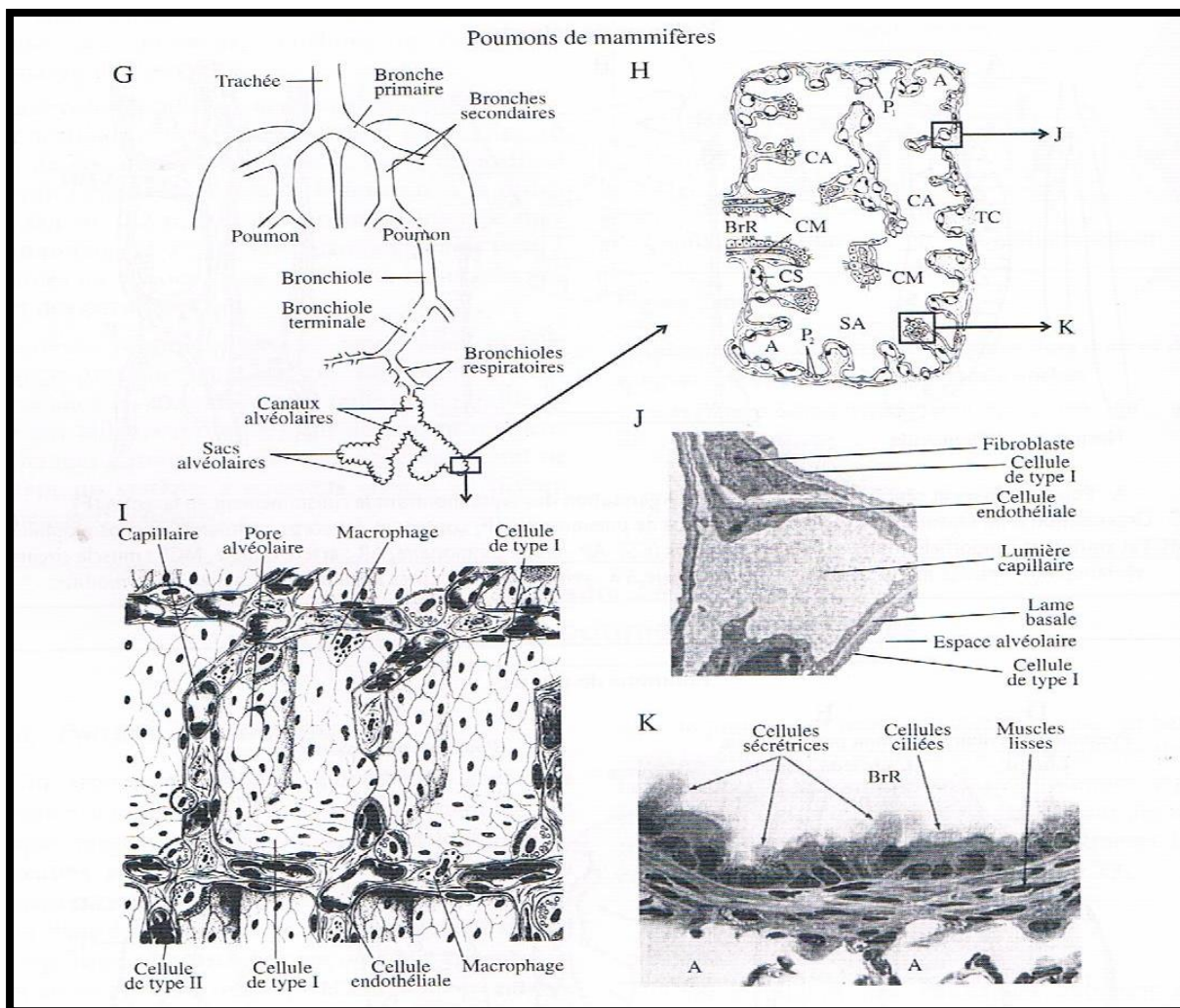


Figure 03. Le poumon chez les mammifères (**Raymond, 2006**). A: alvéole; BrR: bronchiole respiratoire avec épithélium cilié; CA: canal alvéolaire; CM: cellule musculaire lisse; CS: capillaire sanguin; P1: pneumocyte 1 (respiratoire); P2: pneumocyte 2 (surfactant); SA: sac alvéolaire; TC: tisse conjonctif.

1.2. Les maladies respiratoires

La pathologie est une partie de la médecine qui traite la nature les causes et les symptômes des maladies. Il Ya plusieurs pathologies de système respiratoire comme : les tumeurs (Carcinome bronchique, Mésothéliome pleural), abcès du poumon, Tuberculose, pneumonie, Asthme (**Rose et Wilson, 2011**). Il ya d'autres maladies qui sont causé par un xénobiotique par exemple.

Donc, L'oxygène est un élément très important dans l'organisme, c'est l'origine de la Toxicité, d'acidité, d'altération, de dégénérescence.

Le métabolisme de l'oxygène lorsque il est anormal comme dans les maladies respiratoires ,peut entrainer dans le stress oxydant des anomalie métabolique qui provoque des modifications importantes ,donc le stress oxydant est un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défense des antioxydants, il provoque des modifications génomique, métabolique et

fonctionnelle qui ont été impliqués dans le développement de différentes pathologies (Rose et Wilson, 2011).

Les effets de stress oxydant sur les molécules provoquent des altérations de la signalisation cellulaire, favorise des processus de catabolisme et de mort cellulaire (atrophie, cachexie), à l'origine d'une altération même de la fonction d'un organe. Les effets toxiques du stress oxydant posent la question de la pertinence de supplémentation nutritionnelles antioxydants, dans des maladies caractérisées par des dommages oxydatifs tels que les maladies respiratoires, le stress oxydant sera la cause essentielle de plusieurs maladies Cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse pulmonaire aigu, œdème Pulmonaire, vieillissement accéléré. Ainsi, les relations entre stress oxydant et cancer s'avèrent très étroites ; les radicaux libres intervenant dans l'activation des pro-carcinogènes en carcinogènes, créant les lésions de l'ADN, amplifiant les signaux de prolifération et inhibant les antioncogènes comme la protéine p53 (Favier, 2006 ; Christelle, 2006) et on a exemple sur les maladies respiratoire :

-Broncho-pneumopathie chronique obstructive, Une maladie respiratoire, un exemple évident La BPCO semble particulièrement susceptible au stress oxydant et Le patient BPCO présente ainsi des anomalies de la balance oxydant antioxydant à tous les étages du parcours de l'oxygène : pulmonaire, sanguin et musculaire. En effet, des excès d'oxydants dans les fluides et les gaz d'origine respiratoire sont observés. Le liquide de lavage broncho alvéolaire (LBA) contient par exemple une surexpression de xanthine oxydase, enzyme qui produit le radical O_2 , (Christelle, 2006).

En effet, cette maladie est provoquée à quatre grandes sources ou facteurs préférant l'apparition d'un stress oxydant Et l'inflammation.

Les espèces oxygénées réactives aujourd'hui sont considérées comme les messagers secondaires par lequel l'inflammation provoque plusieurs actions sur le muscle comme : protéolyse, dysfonction contractile, apoptose, sur l'épithélium des cellules alvéolaires Montrer in vitro que l'exposition au TNF- α causé la diminution de la concentration de GSH intracellulaire.

Les défenses antioxydants au niveau pulmonaire, dans un premier temps peuvent être stimulées la production accrue d'oxydants, dans le compartiment pulmonaire restent apaisés Chez les patients BPCO comparativement aux sujets sains et non-fumeurs beaucoup d'études ont indiqué l'existence au repos d'anomalies de la balance oxydant Antioxydant au niveau systémique (Favier, 2006).

2. Le stress oxydant

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre la génération des radicaux libres et la capacité de l'organisme à l'invalidation et à la réformation des dommages oxydatif (Bounihi, 2016), donc le terme de stress oxydatif veut dire un déséquilibre entre la production des radicaux libre et l'élimination de ces radicaux (Gasmi, 2018).

Les radicaux libre sont des molécules ou des atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons qui sont non appariés sur leur couche externe, et ce phénomène cause une instabilité énergétique et cinétique ces radicaux libres possède la propriété d'être extrêmes réactifs vis-à-vis des autres molécules qui possèdent un temps de demi vie extrêmes court. (Haleng et al., 2007)

2.1. Espèce réactif de l'oxygène (ERO)

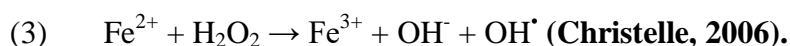
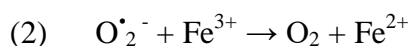
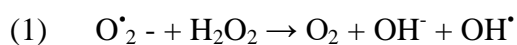
Les ERO sont des espèces électrophiles de courte durée de vie (quelques nanosecondes), elles possèdent une partie des systèmes ubiquitaires possède une réactivité chimique délétère à l'égard des biomolécules. Cette réactivité est inversement proportionnelle au pouvoir oxydant ($\text{OH}\cdot > \text{RO}\cdot > \text{HOO}\cdot > \text{ROO}\cdot$) (Christelle, 2006).

2.2. Réactions de la formation de radicaux libres

L'anion-super oxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$ ($\text{O}_2 + 1 \text{e}^- \rightarrow \text{O}_2^{\cdot-}$), non-réactif, produit dans la mitochondrie par des fuites électroniques au niveau des complexes I et III, ou par le coenzyme Q semi-réduit produit au niveau du complexe II de la chaîne respiratoire, ou par des réactions enzymatiques (NADPH oxydase membranaire, NADPH cytochrome P450 réductase, xanthine oxydase, aldéhyde oxydase), le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , non-réactif, provenant de la dismutation de l'anion super oxyde par les super oxydes dismutases ($2 \text{O}_2^{\cdot-} + 2 \text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$), l'anion superoxyde étant non-diffusible alors que le peroxyde d'hydrogène l'est a une durée de vie longue, le radical hydroxyle $\text{OH}\cdot$, le plus réactif des radicaux car sans moyen de défense.

Directe, produit essentiellement par la réaction d'Haber-Weiss (1) et de Fenton (2 et 3), Catalysée par les métaux de transition tel que le fer :

Phénomènes radio-induits au niveau cellulaire et moléculaire



2.3. Effet des radicaux libres sur l'organisme

2.3.1. Dommage d'ADN

L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des ERO (Christelle, 2006) donc, le stress oxydant provoque plusieurs modification et mutations sur l'ADN et provoque des principales classes de lésions de l'ADN induites par les radicaux hydroxyles et des ruptures de brins d'oligonucléotide et des liaisons transversales ADN-protéine et des sites abasique. Le radicale hydroxyle est le principale réactif participant l'espèce oxygène à l'oxydation endogène de cellule d'ADN. Les ROS peuvent réagir avec la base de guanine (G) de l'ADN et provoquée des mutations qui produise des cancers.

les bases de la purine et de la pyrimidine modifiée constituent l'une des principales classes de lésions de l'ADN induites par les radicaux hydroxyles, ainsi que des ruptures de brins d'oligonucléotides ,des liaisons transversales ADN protéines et des sites abasique on a noté que le radical hydroxyle et un radical causé un grand effet sur la structure parce que dans la

plupart des cas il impliquée dans l'abstraction d'atomes d'hydrogène de différent sites de la partie sucre à l'exception du C2'. Dans la plupart des cas, la formation de C3', C4' et Les radicaux centrés sur C5' conduisent à des ruptures de brins d'ADN alors que l'oxydation de C1' par l'intermédiaire de l'OH entraîne des 2D-désoxyribonolactone.par exemple (on a l'effet des radicaux libre hydroxyle) sur le thymine et guanine (**Cadet et al., 1998**).

- Thymine :

Il Ya plusieurs information sur les réactions du radical OH avec la fraction de la thymine d'ADN et des composé modèles provoquée la majeure partie des oxydes à médiation radicalaire hydroxyle produits de la thymidine 1. Le Radical OH⁻ préférentiellement ajoute 60%au carbone C-5 de la fraction thymine (1). Donnant le radical réducteur (2) centré C-6D'autre part, le carbone C-6 est un site moins favorable pour la réaction d'OH⁻ radical 35%. Celui-ci est accompagné par la formation du radical oxydant (3). La dernière réaction compétitive qui se produit avec environ %5 de rendement concerne l'abstraction d'un hydrogène atome du groupe méthyle, générant l'exocyclique radical(4). Ensuite, la pyrimidine initialement produite par les radicaux 2-4 sont convertis en résidus correspondants peroxyde 5-7 lors d'une réaction rapide avec oxygène (19). Fait intéressant, il a été constaté que sur la moitié de ces derniers intermédiaires pyroxyde sont réduits dans les hydroperoxydes 8-10 par des radicaux superoxydes (20). Isolement des différents hydroperoxydes 8-10 a permis la détermination de leur durée de vie qui varie de quelques jours à une semaine à 37°C. La décomposition hydrolytique de 8 à 10 est assez spécifique.Les diastéréoisomères cis et trans de l'hydroperoxyde 5 9 donnent lieu principalement aux 5R* et 5S* formes de 13 alors que la principale dégradation produit de 8 a été qualifié de 14(**Cadet et al., 1998**).

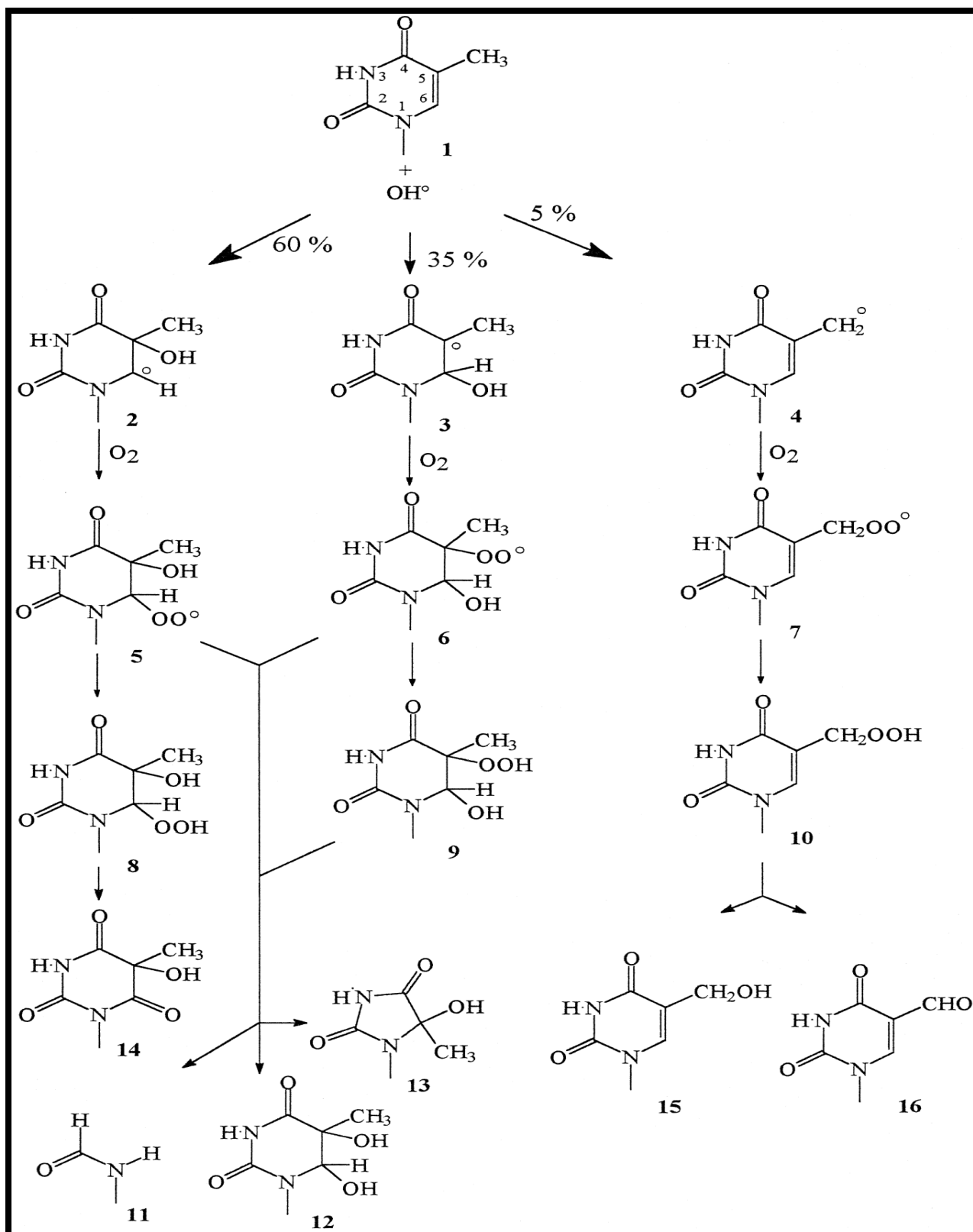


Figure 04. produits d'oxydation induits par les radicaux hydroxyle de la fraction thymine de l'ADN et composés modèles dans une solution aérée (Cadet *et al.*, 1998).

- Guanine :

La guanine et la cible d'ADN la plus susceptible qui possèdent une grande variété de réactions d'oxydation médiée par OH^- radicaux, oxygène singlet, peroxydant et un électron oxydants, respectivement, il convient de noter que la base de guanine présente la potentiel d'ionisation le plus faible exemple les composants d'acide nucléique.

On a deux voies principaux de décomposition du fragment guanine de l'ADN isolé et du modèle composés dans des solutions aqueuses aérées qui Volve addition initiale de OH^- à C4, 60%. Et C8 par 25%.

Les deux produits d'oxydation écrasants de OH^- la partie purine de la 2'-désoxyguanosine 17. Avoir été isolé et caractérisé en tant que 2,2-diamino-4- (2 - désoxy - b - D - érythro - pentofuranosylaminox- 5(2H).-oxazolone (21). et ses 2-amino-5- 2-désoxy- b- D-érythro-pentofuranosylaminox- 4H-imidazol-4- un 20. Il faut ajouter que l'occurrence d'un équilibre entre l'orthocarbonate 20 et l'anneau ouvert tautomère d'acide guanine ne peut pas être totalement exclue. La formation des produits d'oxydation 20-21 sont susceptibles de provenir de l'addition d' OH^- en C-4. Ensuite, le résultat le radical 18 se déshydrate avec une constante de vitesse de $k = 10^3 \text{ s}^{-1}$ en solution aqueuse neutre (27), donnant une neutralité radical oxydant 19. Fait intéressant, le radical oxyde 19 qui est susceptible d'exister dans plusieurs tautomères les formes (27) peuvent également être obtenues par déprotonation de le cation radical guanine initialement produit par photosensibilisation de type I (30,31) ou haute intensité photoionisation laser (32-34). Dans une prochaine étape, on s'attend à ce que la formation d'un radical pyroxyde se produise par addition d'oxygène moléculaire au tautomère C' 5. Radical centré sur le carbone. C'a été déduit de l'observation de l'incorporation de ^{18}O atomes dans les produits de décomposition finale 20 et 21 lorsque la réaction d'oxydation de 17 était réalisée dans une solution aqueuse saturée de $^{18}\text{O}_2$, 128, 29.

Ensuite, addition nucléophile d'une molécule d'eau la liaison double 7 et 8 est susceptible de se produire, donnant monter après réarrangement significatif à l'instable imidazolone 20 $\frac{1}{2}$ demi-vie 10 h en solution aqueuse à 20°C .

Enfin, 20 sont converti quantitativement en l'oxazolone hautement alcalin-labile 21. après hydrolyse (28,29) (**Cadet et al., 1998**).

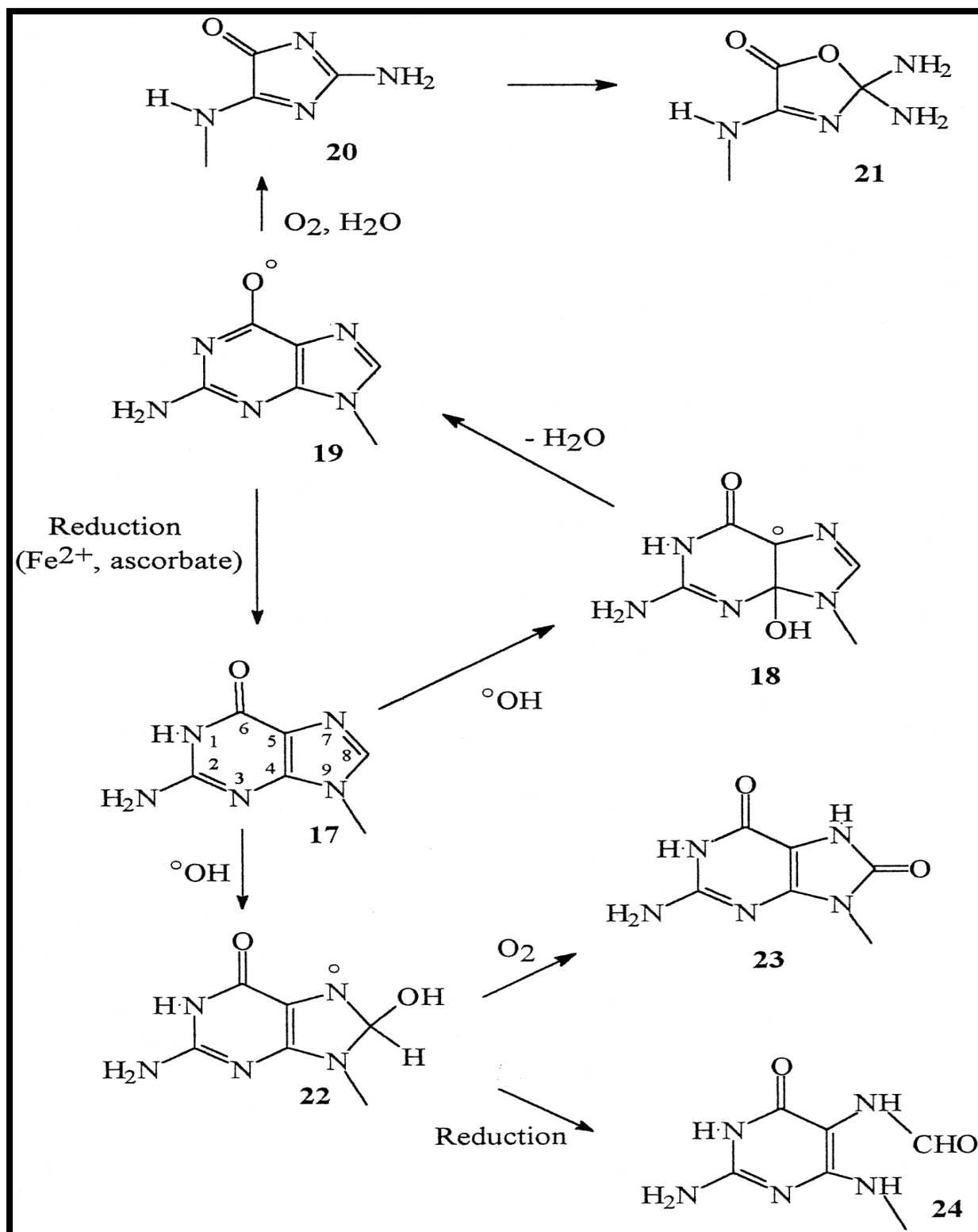


Figure 05. principales voies de décomposition induites par la fraction guanine (17) de l'ADN et composés modèles en solution aqueuse aérée (Cadet *et al.*, 1998).

- Dommage d'ADN en tandem

Différentes lésions qui proviennent d'un radical l'événement a caractérisé par cyclo purine nucléoside qui provoquée l'abstraction de l'hydrogène à médiation par OH au C5' du partie sucre, présente une modification à la fois du le sucre et les bases (**Cadet et al., 1998**).

2.3.2. Oxydation des protéines

Le stress oxydant provoque des modifications sur les protéines d'ADN. Donc les espèces réactive de l'oxygéné peut être réagir directement avec la protéine ou des molécules et donné des produits qui réagissent avec la protéine ou bien la liaison peptidique peut être clivée pour donner des molécules plus faibles ou bien modifié le poids moléculaire.

Donc les espèces réactives de l'oxygène peuvent être réagir directement avec les protéines ou les molécules exemple : les sucres et les lipides, qui génèrent des produits qui réagissent avec la protéine soit au sein de la protéine soit à la liaison peptidique, ou à la sidechain. Peut-être ciblé et donc ces réagissent provoque plusieurs réactions sont modifié par des radicaux libres soit de méthode spécifique dans cette cas les actions au site [Les réactions sont fréquemment influencées par les cations métalliques cycliques redox, en particulier le fer ou le cuivre (**Beal, 2001**).

Les ERO sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Les plus sensibles à leur action sont les acides aminés aromatiques comme le tryptophane, la tyrosine, l'histidine, sur lesquels le radical OH[•] s'additionne, modifiant la conformation de la protéine, ils sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques. Par ailleurs, le radical OH[•], mais aussi l'anion superoxyde O₂^{•-}, s'attaquent également aux protéines des tissus de soutien, comme le collagène du tissu conjonctif. L'oxydation de ces acides aminés conduit à une modification de la conformation spatiale et à une altération de la fonction protéique (**Christelle, 2006**).

La protéine peut être clivée pour produire des molécules plus faibles poids,. Classification de l'oxydante modification des protéines est généralement basée sur ces caractéristiques, mais il n'y a pas de schéma généralement accepté pour la classification. Actuellement, nous trouvons utile de séparer les réactions dans ceux qui oxydent et clivent le peptide et ceux qui modifient les chaînes latérales.

Les modifications spécifiques signalées à date n'affectent qu'une infime fraction des résidus «à risque» ou protéines alors que les modifications globales affectent souvent une fraction substantielle des protéines de l'échantillon. Pour Par exemple, la dityrosine est clairement augmentée dans les cas d'athérosclérose. Depuis les modifications oxydatives donnent lieu à des groupes carbonyle entraînent généralement une perte de fonction catalytique ou structurelle dans les protéines affectées, il est probable que le niveau de protéines modifiées par oxydation observé au cours du vieillissement aura de graves effets délétères sur la fonction cellulaire et d'organe (**Beal, 2001**).

2.3.3. Peroxydation lipidique

Les Radicaux libres provoquent plusieurs mutations sur les lipides et la cible favorable pour ces radicaux sont les acides gras poly insaturé, ceci conduit à une réaction en chaine de peroxydation lipidique qui provoque des modifications sur la fluidité et la perméabilité de la membrane (**Gasmi, 2018**).

Les molécules qui réduisent les radicaux peroxyde en hydroperoxydes Dans les membranes phospholipidiques sont soit une molécule d'acide gras ou de vitamine E. Si une molécule d'acide gras réduit le peroxyde radical, un nouveau radical carboné est généré qui propage l'oxydation des acides gras, le produit naturel de la peroxydation des lipides et de la biosynthèse des prostaglandines mutagène est le malondialdéhyde (MDA) est un Biomarqueur commode pour peroxydation lipidique en raison de sa réaction facile avec acide thiobarbiturique pour former un chromogène intensément coloré Il réagit avec l'ADN pour former des adduits à la déoxyguanosine et à la déoxyadénosine (Mamett , 1999).

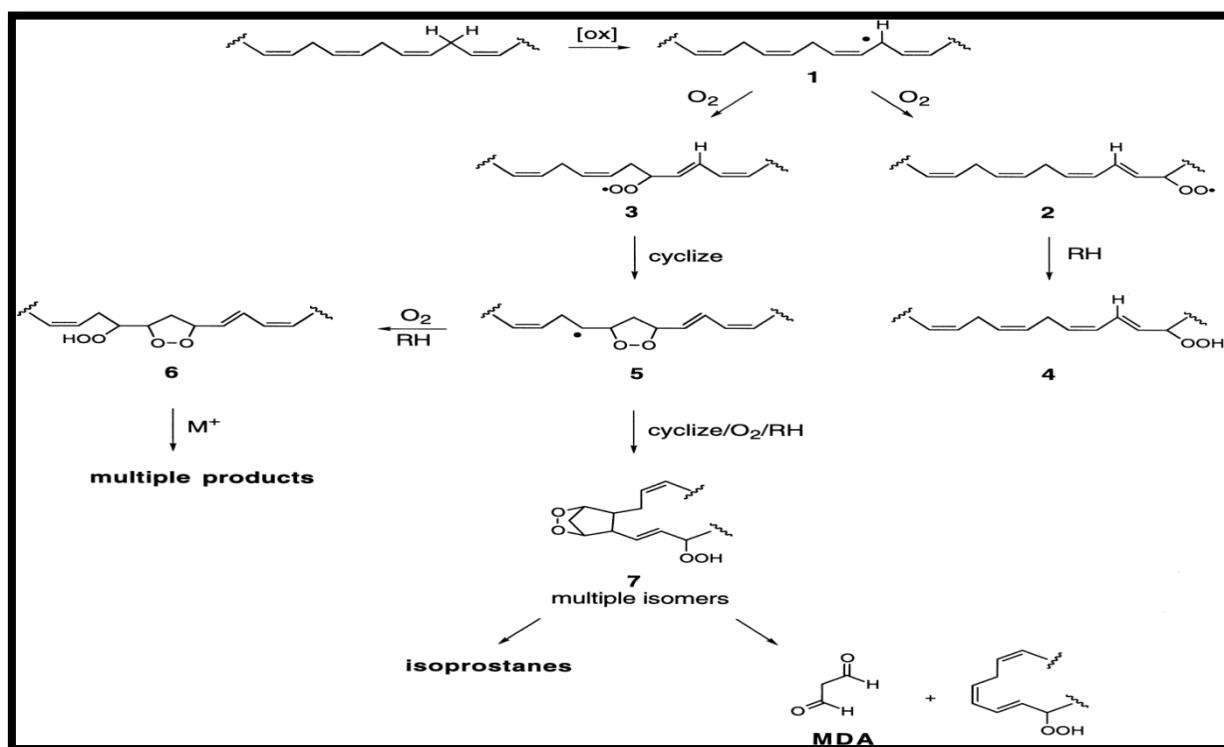


Figure 06. Les voies de la peroxydation lipidique (Mamett, 1999)

2.4. Antioxydants

L'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydants. Pour se protéger des effets délétères des EOA On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydants (Haleng et al., 2007).

2.4.1. Système antioxydant enzymatique

Les principales enzymes antioxydantes sont le superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase. Plus récemment d'autres enzymes possédant des propriétés antioxydantes ont été révélées, les peroxyredoxines.

2.4.1.1. Superoxyde dismutase

Leur source physiologique c'est la chaîne respiratoire mitochondriale, cette production provoqué à partir l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire, une telle réaction est catalysée par le cytochrome oxydase mitochondrial :



La SOD est retrouvée dans toutes les régions du cerveau (**Marfak, 2003**).

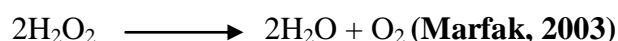
2.4.1.2. Glutathion peroxydase (GPx)

La GPx est une sélénoprotéine (cinq isoformes) qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH). Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés. La GPx est effondrée en cas de déficit majeur en sélénium, elle est donc un bon reflet de cette carence. Toutefois, pour un apport adéquat en sélénium, les teneurs en GPx atteignent un plateau. Le dosage en GPx ne peut donc être utilisé comme marqueur d'une intoxication en sélénium. Cependant, sa synthèse étant rénale et hépatique, d'autres facteurs tels que l'insuffisance rénale ou la cytolysse hépatique peuvent modifier sa concentration (**Haleng et al., 2007**).

2.4.1.3. Catalase (CAT)

La CAT est un enzyme trouvé dans les peroxysomes, lysosomes et les mitochondries, qui vivent en aérobie présent en forte concentration dans le foie et les groupe rouge.

Il neutralise le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et oxygène moléculaire, La CAT et la GPx ayant des niveaux faibles dans le cerveau par rapport au niveau de SOD, c'est pourquoi un effort oxydant créé par un taux élevé de métabolisme peut favoriser les maladies neurodégénératives (**Casetta et al, 2005**).



2.4.1.4. Peroxyredoxines

Les peroxyredoxines (Prx), ou thioredoxine peroxydase, ont été découvertes Récemment et font l'objet de nombreux travaux concernant leurs fonctions antioxydants.

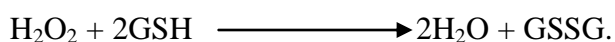
Elles sont au nombre de 6 chez les mammifères localisées dans le cytosol, les mitochondries, les peroxysomes, associées au noyau et aux membranes. Ces Protéines exercent leur rôle antioxydant dans la cellule à travers une activité peroxydase, où H_2O_2 , le peroxy-nitrite et de nombreux hydroperoxydes sont les substrats. Malgré leur plus faible efficacité catalytique par rapport à la GPx et la CAT, ces protéines peuvent jouer un rôle majeur dans l'élimination des hydroperoxydes du fait de leur quantité importante (0,1 à 0,8 % de protéines solubles cellulaires) et de leur large distribution dans la cellule. De plus, Les Prx jouent un rôle significatif lors du développement du poumon et en réponse à un Stress oxydant pulmonaire (Servais, 2004).

2.4.2. Système antioxydant non enzymatique

Il y a de différents composés et substance non enzymatique sont trouvée dans l'alimentation comme les vitamines (E, C) et le polyphénol leur rôle c'est l'inhibition des agents oxydant.

2.4.2.1. Glutathion (GSH)

Ces deux enzymes sont localisées dans le cytosol et dans les mitochondries. Le rôle de la glutathion peroxydase (GPx) est de réduire d'une part le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau, et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools. Lors de cette réaction, qui demande l'intervention de deux molécules de glutathion (GSH), celles-ci se transforment en glutathion-disulfure (GSSG) :



2.4.2.2. La vitamine E (α -tocophérol)

Ce terme désigne un ensemble d'isomères, les tocophérols (constitués d'un noyau chromanol et d'une chaîne latérale saturée à 16 atomes de carbone) et les tocotriénols (qui diffèrent des tocols par la présence de 3 doubles liaisons sur cette chaîne latérale). Point de vue biologique, deux isomères sont particulièrement intéressants, l' α - et le γ -tocophérol. Leur caractère hydrophobe leur permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxy ($ROO\bullet$) pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique. Si l' α -tocophérol est le plus abondant, il semble que le γ -tocophérol soit le plus efficace à ce niveau. Les apports journaliers d' α -tocophérol sont de l'ordre de 10 mg : il se retrouve en quantité variable dans les huiles (soja, maïs, olive) et dans les noix et noisettes. Le γ -tocophérol est présent essentiellement dans l'huile de sésame (Cillard, 1980).

2.4.2.3. La vitamine C

Peut capter directement l' $O_2^{\cdot -}$ et l' OH^{\cdot} . Cette vitamine possède aussi des propriétés prooxydantes. Exemple de réactions antioxydantes en chaîne mettant en jeu les vitamines E et A ces deux vitamines nous pouvons ajouter de nombreux autres antioxydants nonenzymatiques (ex : β -carotène, urate, glucose, bilirubine, taurine, albumine...) Quand le fragile équilibre entre production et élimination des ROS est perturbé, le Sur plus de ROS va oxyder des biomolécules comme les protéines, les lipides et l'ADN, ce qui peut avoir un impact important sur le fonctionnement cellulaire (Servais, 2004).

2.4.2.4. Oligo-élément

On a plusieurs métaux comme le sélénium, le zinc, le cuivre qui possède un rôle contre la défense contre le stress oxydant qui peuvent avoir une action pro-oxydant.

- le sélénium

Le sélénium ne peut piéger les radicaux libres, jouer un rôle très important comme cofacteur de GPx, et le sélénium trouvé dans Les aliments comme, les noix de Brésil, les brocolis, l'ail...sa dose journalière recommandée est de 50-70 μ g/jour.

- le cuivre

le cuivre est un cofacteur d'enzymes comme le SOD, le cytochrome C oxydase, il possède un rôle de déclenchement de réaction de production d'EOA, et le cuivre présent dans le son, l'avoine, le seigle, le foie de veau et son apports journaliers recommandés sont de l'ordre de 2,5 mg.

- Le zinc

Le zinc est un cofacteur de nombreux enzyme qui intervient ainsi dans de nombreuses fonctions comme le métabolisme des nucléotides, la synthèse des prostaglandines, le fonctionnement de l'anhydride carbonique. Comme le cuivre, le zinc est un des cofacteurs essentiels de la SOD. Il protège également les groupements thiols des protéines et il peut inhiber les réactions de formation d'EOA induites par des métaux de transition comme le fer ou le cuivre. Le rapport Cu / Zn, (normalement inférieur à 1,5) sera un excellent indicateur de l'état de stress oxydant d'un individu. Les aliments les plus riches en zinc sont les viandes et les poissons, les céréales complètes et les légumes secs ; les apports journaliers recommandés sont de l'ordre de 20 mg (Haleng *et al.*, 2007).

2.4.2.5. Le polyphénol

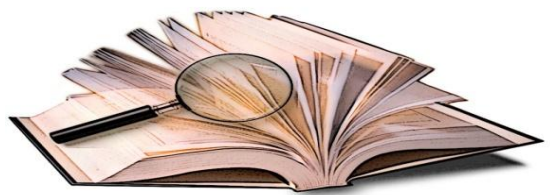
Ce sont des composé issus du métabolisme secondaire des végétaux et qui sont caractérisé par la présence d'un ou plusieurs groupements phénolique dans leur structure, la présence d'une

ou de plusieurs fonctions hydroxyles (OH) liées à un noyau aromatique, formant ainsi des groupes benzéniques, Ils sont repartis en différents groupes, définis en fonction de la structure de leur squelette carbone. Les groupes des acides phénoliques (C6-C1 ou C6-C3) et surtout des flavonoïdes (C6-C3-C6). Sont les plus fréquemment retrouvés dans les aliments d'origine végétale Le dernier groupe est celui des stilbenes (C6-C2-C6) ; le plus connu est le resveratrol, présent dans la peau du raisin et dans le vin rouge.

Les polyphénols possédant des propriétés anti oxydant peuvent franchir la barrière intestinale pour accéder les molécules biologique active ou tissu et cellule cible. Les polyphénols sont des formes conjuguées et aglycones. Ils les polyphénol sont des anti oxydant avec des activité non anti –oxydant se sont des substances faiblement bio disponibles polyphénol et syndromes métabolique peuvent provoquée l'apoptose de cellule cancéreuse (**Amiot et al., 2009**).

D' autres études ont montré que les flavonoïdes sont aussi des bons inhibiteurs d'autres enzymes responsables de la production des radicaux libres comme la cyclooxygénase et la Lipoxygénase (**Marfak, 2003**).

Les plantes possèdent une source important des antioxydants, ces substances naturelle se trouvent pour assurer la protection des plantes contre le stress oxydatif ils sont présents dans toutes les plantes supérieures et dans toutes les partie des plante exemple les flavonoïdes qui sont trouvé dans la *Melissa-officinalis*, ces produit naturelles possèdent des propriétés médicinales (anti cancérigène et anti –inflammatoire) (**Bounihi, 2016**).



Chapitre III: La melissa Officinalis

1. Généralité sur *la Melissa Officinalis*

Melissa officinalis qui dites (citronnelle, piment des abeilles, thé de France) est une plante médicinale de genre de la famille des lamiacées, herbacée.

La *Melissa officinalis* est une plante aromatique réputée pour ses vertus digestives, relaxantes, antispasmodique et sudorifique, est cultivée dans les jardins depuis des temps très ancienne, originaire d'Europe leur son gout astringent et l'arôme léger .elle peut être aussi consommée sous forme de tisane, utilisé en cuisine pour relever salades, sauce, poissons, viandes et volailles), et caractérisée par les feuilles à l'odeur et à la saveur citronnées. (Thoby, 2009).

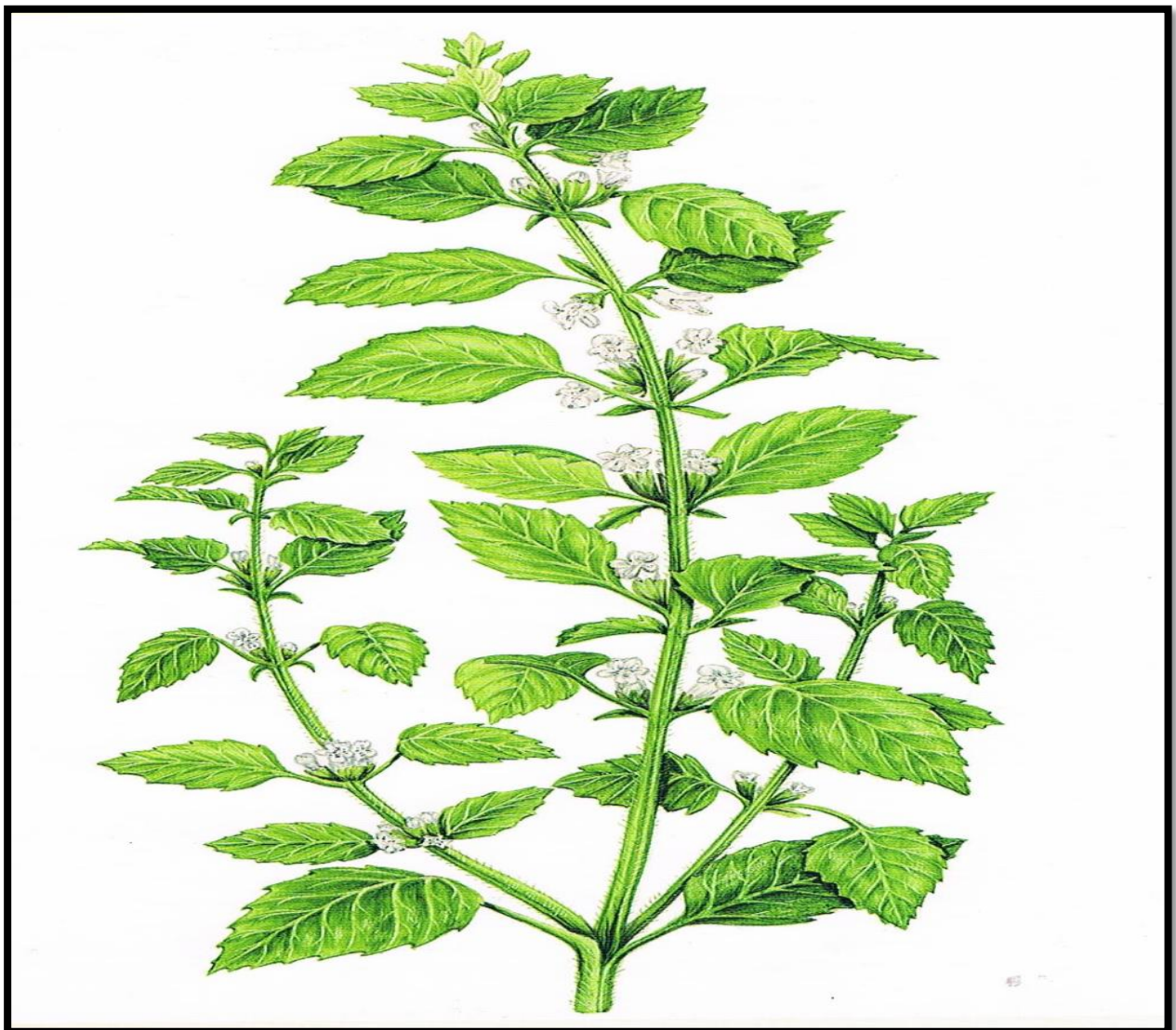


Figure 07. *Melissa officinalis* (Hans, 2007).

2. Classification

- Embranchement des Spermatophytes.
- Sous-embranchement des Angiospermes.
- Classe des Dicotylédones.
- Sous-classe des Gamopétales tétra cycliques superovariées.
- Ordre des Tubiflorales.
- Sous-ordre des Verbénales.
- Famille des Lamiacées.
- Sous-famille des Stachyoideae.
- Tribu des Saturejeae.
- Sous-tribu des *Melissinae* (**Hegnauer , 1966**).

3. Description

Melissa officinalis est plus communément appelée citronnelle ou mélisse-citronnelle, La mélisse est une plante vivace herbacée de 30 à 80 cm de hauteur, à port de menthe, à Feuilles vert vif d'odeur citronnée. La partie souterraine. Est constituée de tiges souterraines, rameuses, portant des racines produisant des Bourgeons adventifs qui permettent à la plante de se perpétuer et de se multiplier (**Caroline, 2009**).

3.1. Les tiges

Elles sont quadrangulaires et érigées, sont ramifiée, dès la base elles Sont clairsemées de poils fins (**Teuscher et al., 2005**).

3.2. La feuille

Les feuilles de la *Melissa Officinalis* sont simples, opposées, ovales, quelquefois légèrement cordiformes, Pétiolées, largement dentées en scie, à nervation réticulée, mesurant de 5 à 8 cm sur 4 à 5 cm. La face supérieure, de couleur verte vive foncée, est rugueuse au toucher car elle est couverte de poils tecteurs fins et courts de couleur blanche. Les nervures, saillantes sur la face inférieure beaucoup plus pâle et glabre, forment un réseau entre les branches duquel le limbe est soulevé ce qui donne à la face inférieure un aspect gaufré caractéristique. Les feuilles des rameaux axillaires sont plus petites (**Caroline, 2009**).

3.3. La fleur

La floraison a lieu de juin à septembre. Le type d'inflorescence est la cyme. blanches, rosées, brièvement pédonculées, les fleurs sont groupées par trois ou six en verticilles axillaires unilatéraux, espacés le long de la tige et insérés à l'aisselle des feuilles supérieures et centrale (**Caroline, 2009**).



Figure 08 : Feuilles et fleurs de *Mélisse Officinalis* (**Adimi, 2018**).

4. Composition chimique

Les composants essentiels de *Melissa officinalis* sont : l'huile essentielle et les polyphénols

4.1. l'huile essentielle

Les complexes huiles essentielles sont des produits de composition complexe renfermant les principes volatiles contenus dans les végétaux, et la préparation des essences *officinalis* (huiles volatiles) qui sont des produits de composition assez complexe renfermant les principes volatiles contenu dans les végétaux soit par distillation à la vapeur d'eau de plantes à essences ou de leurs organes, et celui par expression (**Caroline, 2009**) donc l'huiles essentielles se sont des limpides a couleur jaune claire et une odeur citronné, ce sont des mélanges complexes de constituants qui possède deux groupes qui sont terpénoides et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Bruneton, 1999**).

Et sont composants :

- Terpénoides
- Hydrocarbures
- Alcools
- Aldéhydes
- Citronellal
- Cétones
- Hétérosides de phénylpropanoïdes
- Hétérosides de terpènes (**Bruneton, 1999**).

4.2. Polyphénol

Est un groupe de molécules de structures variées, trouvent d'ores et déjà une large utilisation en phytothérapie. (**Hennebelle et al., 2004**), et leur structure chimique est caractérisée par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relie (**Manallah, 2012**). Dans la *Mélissa Officinalis*, sont représentés les flavonoïdes et les acides-phénols.

4.2.1. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Bouakaz, 2006**).

Ce sont des composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont considérés comme des pigments universels des végétaux (**Marfak, 2003**), sont responsables de la coloration des fleurs et des fruits, et existent le plus souvent à l'état naturel sous forme

d'hétérosides, en les trouve en abondance surtout dans les organes jeunes. Leur rôle physiologique c'est la protection de la plante vis-à-vis d'UV et des radicaux libres, les flavonoïdes sont classés selon leur structure en les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones, les anthocyanes et les tanins.

Ces substances trouvées à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Et possède plusieurs effets qui sont : antiulcéreux, anticancéreux, antioxydant, peut empêcher le diabète et inhibé l'enzyme aldose réductase et effet hypoglycémiant et réduit les maladies cardio-vasculaires, et anti-virus) (**Marfak, 2003**).

4.2.2. Acide phénolique

Ce sont des substances phytochimiques avec des effets prebiotiques, antioxydant, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est très faible car ils sont considérés non toxiques (**Youla, 2017**).

Ce sont des dérivés hydrox cinnamiques. La pharmacopée française indique que les feuilles de sèches de *Melissa officinalis* doivent contenir au minimum 5 % de dérivés hydrox cinnamiques totaux, exprimés en acide rosmarinique.

Et il ya plusieurs acides qui sont :

- Acide caféique.
- Acide chlorogénique.
- Acide rosmarinique.
- Acides mélitriques.

4. 3. Composés divers

La Mélissa contient également 4 % de tanin, une résine, une cire, une substance blanche Inconnue, un principe amer obtenu à l'état cristallisé et de l'acide succinique (**Caroline, 2009**).

5. Utilisation

Les effets de *la melissa Officinalis* et de la valériane, sous forme de poudre de plante ou d'extrait sec (aqueux ou hydro alcooliques le plus souvent) ont été beaucoup étudiés, afin de déterminer leur mécanisme d'action (**Youla, 2017**) et évaluation de leur pouvoir antibactérien).

Melissa officinalis utilisé en médecine (en urologie, dermatologie, et utilisé comme des médicaments en agriculture (dans l'agriculture dans le contrôle de divers insectes et nématodes), et en alimentation dans les épices et les herbes aromatiques, ou bien comme condiments et

aromates utilisé aussi en cosmétique dans des produits de beauté, parfumes et articles de toilette et dans des produits d'hygiène (Mohammedi, 2006).

6. Utilisation médicinales

Mélissa officinalis utilisé en médecine parce qu'elle possède plusieurs propriétés et activités (anti –inflammatoire et activité anti virale et anti bactérienne, et activité anti –parasitaire et des propriétés anti –oxydant et anti radicalaire et propriété anti analgésique) (Lamaison et al., 1991)

Mélissa officinalis possède plusieurs formes pharmaceutiques :

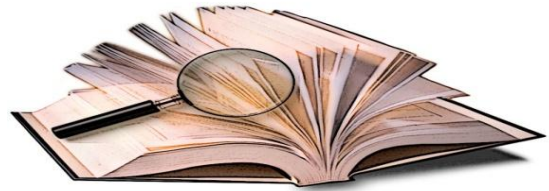
- Tisane médicinale comme des sachets.
- Gélules comme poudre de feuille.
- Comprimé et capsule comme l'extrait hydro-alcoolique ou extrait aqueux.
- Solutions buvables comme extrait hydro alcoolique, teinture passiflore.
- Ampoules buvables comme hydrolat de mélisse.
- Huile essentielle.
- Une pommade.

Ces formes utilisées pour :

- Traitement des troubles nerveux : stress, anxiété, angoisse, crise de nerfs.
- Effets antispasmodiques : spasmes de l'estomac et du colon.
- Troubles du sommeil : insomnie.
- Problèmes cardiaques : tachycardie.
- Troubles gastriques : excès d'acidité de l'estomac.
- Améliore la circulation sanguine : distension ou contraction des vaisseaux.
- Lutte contre les infections virales : herpès labial et génital, zona. Névralgies et Blessures mineures.
- Relaxation des muscles et des nerfs : muscles et nerfs tendus
- Calmant (troubles nerveux, stress, anxiété, angoisse), antispasmodiques (estomac, intestin), infections virales (herpès, zona), problèmes cardiaques (tachycardie), troubles du

Sommeil (insomnies), digestif, stimulant de la mémoire, blessures externes et névralgies, protecteur de l'organisme (Youla, 2017)

Partie Pratique



Matériels et méthodes

1. Matériel et méthode

1.1. Matériel

1.1.1. Matériel Biologique

Le rat *Wistar* est un rat albinos non consanguin. Cette race a été développée à l'Institut *Wistar* en 1906 pour la recherche biologique et médicale, Plus de la moitié de toutes les souches de rats de laboratoire descendent de la colonie originale établie par le physiologiste Henry Donaldson, l'administrateur scientifique Milton J. Greenman, et la chercheuse en génétique / embryologiste Helen Dean King.



Figure 09: Rats males de la souche Wistar (Photo personnelle)

1.1.2. Classification

L'embranchement : Vertébrés.

Classe : Mammifères.

Ordre : Rongeurs.

Sous- ordre : Myomorphes.

Famille : Muridés.

Sous famille : Muridés (Descat , 2002).

1.1.3. Utilisation en recherche

Après la souris d'expérimentation, le rat est le mammifère d'expérimentation le plus utilisé comptant pour à peu près 20 % du nombre total de mammifères utilisés en recherche (Festing, 1979).

Depuis les quatre-vingts dernières années, le rat a été utilisé dans presque tous les aspects de la recherche biomédicale et comportementale et de la toxicologie. Les mutations génétiques et la sélection ont produit de nombreux modèles de recherche extrêmement valables dont nous donnerons des exemples à l'item 3. Sélection. Une publication récente sur les applications en recherche biomédicale donne une liste de domaines de recherche dans lesquels le rat est largement utilisé et particulièrement utilisé en : toxicologie, tératologie, oncologie expérimentale, gérontologie expérimentale, recherche cardiovasculaire, immunologie, recherche dentaire, immunogénétique et parasitologie expérimentale (**Baker et al., 1980**).

1.1.4. Produits chimique

Lambda-cyhalothrine [α -cyano-3-phénoxybenzyle 3- (2-chloro-3, 3, 3- trifluoro-1-propényl) -2,2-diméthylcyclopropanecarboxylate] est un type insecticide pyréthroïde II très actif contre une large gamme de des espèces de lépidoptères, d'hémiptères, de diptères et de coléoptères.

La lambda-cyhalothrine a été largement utilisée chez les animaux applications de la santé, ainsi que dans les bâtiments où il efficacement contrôle un large spectre d'insectes et d'ectoparasites, y compris les blattes, mouches, poux, moustiques et tiques (**Martinez et al., 2018**).

- **Préparation de extraite de *Melissa Officinalis***

Les feuilles, la pulpe et les graines ont été broyées finement à 2000 tours/min dans un broyeur électrique.

100 g de chaque partie ont été extraits avec quatre solvants (éther de pétrole, hexane, chloroforme et méthanol) en utilisant un Soxhlet pendant 12 h à 40, 65, 60 et 64°C respectivement et à l'abri de la lumière.

Les extraits obtenus ont été concentrés à sec par évaporation rotative. 10 g de chaque partie additionnés de 100 ml de méthanol 80 % ont subi une agitation magnétique de 15 min, une sonication de 15 min et une filtration sur papier Wathman n°4.

Le filtrat est concentré par évaporation rotative jusqu'à élimination du méthanol. (**Fadel et al., 2011**)

1.2. Méthodologie

1.2.1. Entretien des animaux

Le travail a porté sur des rats adultes mâles de type « *Wistar* » élevés à l'animalerie au niveau du département de Biologie, Faculté des sciences de la nature, de la vie, des sciences de la terre et de l'univers, Université de Tébessa.

Les rats utilisés sont des rats *Wistar* âgés de 09 semaines et ayant un poids corporel entre 180 et 250 g. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans les recherches scientifiques.

Les rats sont maintenus dans des conditions favorables d'élevage à une température de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ et une photopériode naturelle 12/12H. Ces animaux sont nourris. Et boivent de l'eau de robinet à volonté.

Les rats sont élevés dans des cages en polyéthylène (06 rats pour chaque cage) qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages sont nettoyées et la litière est changée une fois par deux jours jusqu'à la fin de l'expérimentation.



Figure 10: Conditions d'élevage des rats (Photo personnelle).

1.2.2. Choix des doses

Dans ce travail, nous avons utilisé Lambda cyhalothrine pour le traitement des rats sous forme solution à une dose de Lambda cyhalothrine : 05mg/kg/jour et Lambda cyhalothrine 10mg/kg/jour pour le traitement des rat, et d'autre parts de l'extraie de *Melissa Officinalis* en solution aqueuse à une dose 10mg/kg/j.

Dans cette étude, nous avons utilisé un pesticide (Lambda cyhalothrine) aux doses consécutives de 05 mg/kg/j et 10 mg/kg/j administrées chroniquement par voie orale pendant 90 jours. Le choix de ces doses est basé sur des études de (Samiran et al., 2010)

1.2.3. Lotissement et traitement

Après 60jours d'adaptation, chaque rat a été gavé 1 fois par jour pendant trois mois.

Ainsi, 06 lots de rats sont répartis comme suit :

- **Lot témoin**: lot témoin (T) reçoit l'eau distillée par gavage 100µl/jour pendant 90jours par voie oral.

- **2^{ème} lot** : traités par l'extrait de la *Melissa Officinalis* 10mg/kg/jour pendant 90j par voie orale.

- **3^{ème} lot** : traité par la Lambda cyhalothrine recevant 05 mg/kg/jour pendant 90jour par voie oral.

- **4^{ème} lot** : traité par la Lambda cyhalothrine recevant 10 mg/kg/jour pendant 90jour par voie oral.

- **5^{ème} lot** : traités par la mixture de Lambda cyhalothrine 05mg/kg/jour et la *Melissa Officinalis* 10mg/kg/jour pendant 90jours par voie orale.

- **6^{ème} lot** : traités par la mixture de Lambda cyhalothrine 10mg/kg/jour et la *Melissa Officinalis* (10mg/kg/j) pendant 90jours par voie orale.

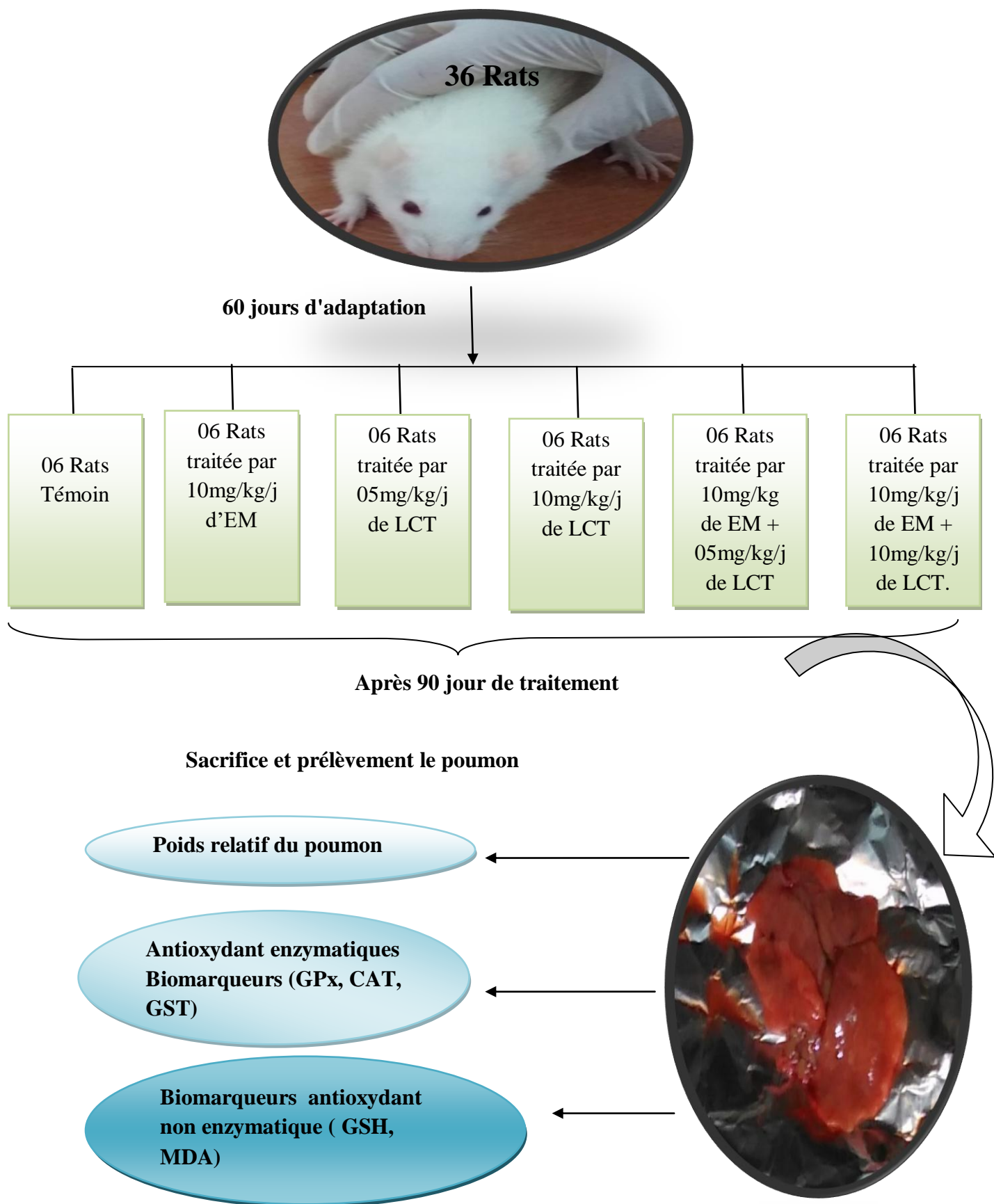


Figure 11 :Protocole expérimental.

1.2.4. Sacrifice et prélèvement des poumons

A la fin de la période d'administration de pesticide Lambda-cyhalothrine de trois mois. Les animaux sont sacrifiés par décapitation, les poumons ont été rapidement prélevés et rincés dans une solution de chlorure de sodium (NaCl) à 0,9% puis pesé et conservé pour les dosages des différents paramètres.

Estimation du poids relatif du poumon

Le poids relatif des poumons extraits des rats PRp [g/100g de poids corporel]) est calculé par rapport au poids total du rat selon la formule suivant :

PRP (g/100g de PT) = **PP/PT x 100** **PP**: poids des poumons (g). **PT** : poids total de rat (g).

PRp : poids relatif des poumons (g)



Figure12: Poumons prélevés après sacrifice (photo personnelle)

2.5. Evaluation des paramètres de stress oxydatif

2.5.1. Evaluation des Biomarqueurs non enzymatiques

2.5.1.1. Evaluation du glutathion (GSH)

Le dosage du glutathion est réalisé selon la méthode de (**Weckbeker et Cory ., 1988**). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5, 5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Elleman) par les groupements (-SH) du glutathion. Une fois l'homogénat doit subir une déprotéinisation (par l'acide sulfosalicylique 0.25%) afin de protéger les groupements-SH du glutathion.

La procédure expérimentale du dosage du glutathion est la suivante :

- Ont posé 200 mg de tissu sont mis individuellement en présence de 8 ml de solution d'EDTA (Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique) à 0.2 M.

- Le mélange mis dans des glaçons est broyé à l'aide d'un pilon en porcelaine.

Une fois préparé, l' homogénat est déprotéinisé, Prélever 0.8 ml de ce dernier auquel on ajoute 0.2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) à 0.25%.

- Agiter et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.

- Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.

- Prélever 0.5 ml du surnageant.

- Ajouter 1 ml de tampon tris-HCL+ EDTA (0.02M), PH = 9.6.

- Mélanger et ajouter 0.025 ml de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01M dissous dans le méthanol absolu.

- Laisser pendant 5 min à une température ambiante et lire les densités optiques à 412 nm.

La concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GSH (nmol GSH/ mg protéine)} = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1.525}{13100 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg}}$$

DO : Densité optique

1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8ml homogénat + 0.2 ml de l'acide salicylique).

1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 ml surnageant + 1 ml Tris + 0.025 ml DTNB).

13100 : Coefficient d'absorbance du groupement –SH à 412 nm.

0.8 : Volume de l'homogénat après déprotéinisation trouvé dans 1 ml.

0.5 : Volume du surnageant trouvé dans un 1.525 ml.

2.5.1.2. Evaluation du malondialdéhyde MDA

Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode (**Esterbauer *et al.*, 1992**). Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique, pour former un pigment (rose). Ce chromogène peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 530 nm.

Protocole

Prélever 375 µl de l'homogénat (surnageant).

Ajouter 150 µl de la solution TBS (tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4).

Ajouter 375 µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%)

Vortexer et centrifuger à 1000 tour/min pendant 10 min.

Prélever 400 µl du surnageant.

Ajouter 80 µl du HCL 0.6 M.

Ajouter 320 µl de la solution tris-TBA (tris 26 mM, TBA 120 mM).

Mélanger et incuber au bain marie à une température de 80°C pendant 10 minutes.

La concentration de MDA est calculée selon la loi de Beer-Lambert ($DO = E.C.L$) :

$$[C] \text{ (nmol/mg protéine)} = \frac{DO \cdot 10^6}{\epsilon \cdot L \cdot X \cdot Fd}$$

C : Concentration en nmol/mg de protéines ; **DO** : Densité optique lue à 530nm.

E : Coefficient d'extinction molaire du MDA = $1.56105 M^{-1} cm^{-1}$.

L : Longueur du trajet optique = 0.779 cm.

X : Concentration de l'extrait en protéines (mg/ml).

Fd : Facteur de dilution : $Fd = 0.2083$.

2.5.2. Biomarqueurs enzymatiques

2.5.2.1. Evaluation de glutathion peroxydase (GPx)

L'activité enzymatique de la GPx est mesurée par la méthode de (Flohe et Gunzler, 1984), Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GSH-Px.

Protocol

Homogénéisation par le tampon phosphate pH 7.8 (Pour L'extraction de l'enzyme).

- Centrifugation 10 min a 3000 t/min.
 - Récupération de surnageant (extrait enzymatique).
 - 0.2 ml de surnageant + 0.4 ml de GSH (glutathion forme réduite) à 0.1 mM (réaction enzymatique) + 0.2 ml TP a 0.067 M (tampon d'extraction pH 7.8).
 - Préparer un blanc avec 0.4 ml de GSH + 0.2 de TP (réaction non enzymatique).
 - Incubation au bain marie à 25°C pendant 05 min.
 - 0.2 ml d' H_2O_2 (1.3 mM) pour initier la réaction.
 - Laisser agir 10 min.
 - Arrêter la réaction par addition de 1 ml de TCA 1% (acide tri chloro-acétique).
 - Mettre le mélange dans la glace pendant 30 min.
 - Centrifuger durant 10 min a 3000 t/min.
- Prélever 0.48 ml de surnageant et place dans une cuve + 2.2 ml de Na_2HPO_4 (0.32M) + 0.32 ml de DNTB (1mM).
- Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm.

La détermination (calcule) de l'activité de la GPx se fait de la façon suivant :

Activité de GSH consommée/min/gr de protéine.

*DO : échantillon : Densité optique de l'échantillon.

*DO étalon : Densité optique de l'étalon.

* 0.04 : Concentration de substrat (GSH).

Donc la concentration de GSH réduit qui sera oxydée (disparue) = $DO_e - DO_b$

$X = (DO_e - DO_b) \times 0.04 / DO_b$ = quantité de GSH réduit disparue (oxydée) dans 0.2 extrait dans 1ml.

2.5.2.2. Evaluation de l'activité de glutathion S-Transférase (GST)

La mesure de l'activité de glutathion S-Transférase (GST) est déterminée selon la méthode de (**Habig et al., 1974**), Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-Chloro2,4-dinitrobenzène) en d'un cofacteur le glutathion (GST), la conjugaison entraîne la formation d'une molécule nouvelle ; 1-S-Glutathionyle 2-4Di nitrobenzène permettant de mesurer l'activité de GST.

Pour cela, nous avons procédé aux étapes suivantes :

- Homogénéisation par 1 ml de tampon phosphate (0.1M, pH6).
- L'homogénat est centrifugé à 14000 t/min pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzymes.
- Le dosage consiste à faire réagir 200µl du surnageant avec 1.2 ml du mélange CDNB (1mM), GSH (5 mM) [20.26 mg CDNB, 153.65mg GSH, 1 ml éthanol, 100 ml tampon phosphate (0.1M, pH 6)].
- La lecture des absorbances est effectuée pendant une minute et chaque 15 secondes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

La concentration de la GST est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GST (nmol GST/min/mg de protéine)} = \frac{\text{DO échant} / \text{min} - \text{DO blanc} / \text{min}}{9.6 \times \text{mg de protéine}}$$

Do : Densité optique de l'échantillon /min.

Do/min blanc : Densité optique du blanc /min.

2.5.2.3. Evaluation de l'activité enzymatique de la Catalase (CAT)

Le dosage spectrophotométrique de l'activité catalase (CAT) est réalisé suivant la méthode de (**Cakmak et Horst 1991**). La décroissance de l'absorbance est enregistrée pendant trois minutes par un spectrophotomètre pour une longueur d'onde de 240nm et un coefficient d'extinction linéique molaire $\epsilon=39400 \mu\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{L}$.

Pour un volume final de 3ml :

- 100µl de l'extrait enzymatique brut.
- ajouté 0µl de peroxyde d'hydrogène H₂O₂ à 0.3% et 2850µl de tampon phosphate (50 mM, pH 7.2).

- la réaction est déclenchée par l'addition d'eau oxygénée (L'étalonnage de l'appareil se fait en l'absence de l'extrait enzymatique (Jenway 6300).

L'activité de catalase est calculée selon la loi suivant :

$$\mathbf{Act} = \frac{\Delta A.Vt}{\epsilon.\Delta t.L.Ve.p}$$

Act : Activité enzymatique en µ mole /min/mg de Protéines.

ε : Coefficient d'extinction linéique molaire en. µM⁻¹. cm⁻¹

ΔA : pente de la droite de régression (variation de la densité optique en fonction du temps).

Vt : Volume total du mélange réactionnel en ml.

Ve : Volume de l'extrait enzymatique en ml.

L : Largeur de la cuve de mesure en cm.

P : Teneur en protéines en mg.

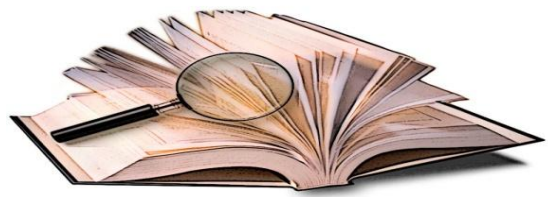
T : temps de lecture en min.

Est due à la longueur d'onde 520 nm.

2.5.3. Analyses statistique

Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne de six répétitions (moyen ± écartype), et pour mieux visualiser en utilisant l'office Excel 2007 pour représentés ces résultats sous forme des graphiques et des histogrammes. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Minitab® 17.1. La signification de différence entre le lot témoin et les lots traités est vérifiée en utilisant le test de *Dunette* et le test de Tukey, et le résultat de comparaison comme suivant :

- $p > 0,05$ = la différence n'est pas significative
- (*) $0,05 > P > 0,01$ = la différence est significative,
- (**) $0,01 > P > 0,001$ = la différence est hautement significative,
- (***) $P < 0,001$ = la différence est très hautement significative



Résultats

2. Résultats

2.1 Effet du Lambda cyhalothrine et l'extrait de la *Melissa officinalis* sur le Poids relatif du poumon (%) des rats

Pour le suivi des changements des poids relatif du poumon des rats pendant la période du traitement. Nous remarquons une diminution non significatif ($p > 0.05$) chez les lots traités par Lambda cyhalothrine a dose (05mg/kg/j; 10mg/kg/j) par rapport les témoins et la combinaison de (Lambda cyhalothrine/ *Melissa officinalis*) on remarque une diminution non significatif ($p > 0.05$) par rapport aux témoin.

Tableau 02 :Variation de poids relative de poumon chez les différents groupes expérimentaux.

Groupe	Témoin	10mg/kg/j	05mg/kg/j	10mg/kg/j	10mg/kg/j+ 05mg/kg/j	10mg/kg/j+ 10mg/kg/j
Poids Relatif de poumon	0.651±0.144	0.651±0.084	0.651±0.071	0.651±0.099	0.651±0.091	0.651±0.064

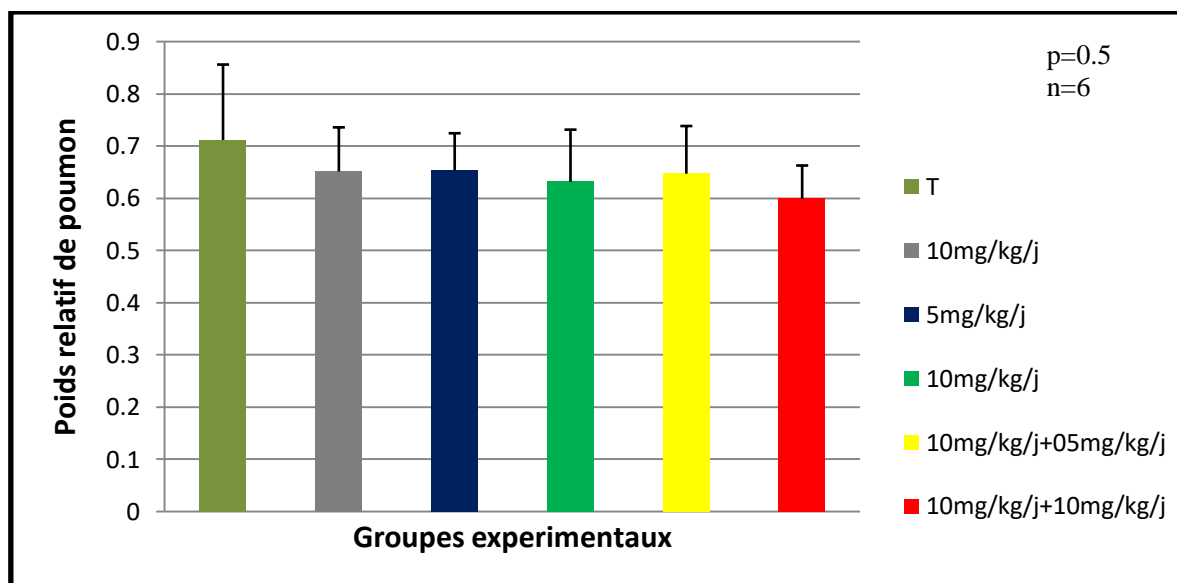


Figure13: évaluation des poids relatif du poumon chez les rats témoins, traités par Lambda cyhalothrine , *Melissa Officinalis*, et traités par Lambda cyhalothrine /*Melissa Officinalis* après 03moin de traitement.

2.2. Effet de Lambda Cyhalothrine et l'extraite de *Melissa Officinalis* sur les paramètres de stress dans les poumons des rats

2.2.1. Effet sur les paramètres non enzymatiques

2.2.1.1. Effet sur le taux de MDA

Cette figure (14) représente la variation de taux de MDA chez les rats traités par la lambda-cyhalothrine et l'effet protecteur de l'extrait de *Melissa Officinalis* par rapport les témoins.

Nous observons dans cette présent une augmentation très hautement significative ($P < 0.001$) chez les lots traitée par Lambda cyhalothrine aux doses (05mg/kg/jour et 10mg/kg/jour) , aussi une diminution significative ($p < 0.05$) chez le lot traite par le combinaison (10mg/kg/j + 05mg/kg/j) et une diminution hautement significative ($p < 0.01$) chez le lot traité par (10mg/kg/j + 10mg/kg/j) par apport aux lots traités par Lambda cyhalothrine.

Tableau 03: Taux de MDA pulmonaire des rats dans les différents groupes expérimentaux.

Groupes	Témoin	10mg/kg/j	05mg/kg/j	10mg/kg/j	10mg/kg/j+ 05mg/kg/j	10mg/kg/j+ 10mg/kg/j
MDA(μmol /mg de protéine)	0.36 \pm 0.000	0.35 \pm 0.000	0.50 \pm 0.013 ***	0.55 \pm 0.002 ***	0.38 \pm 0.009 **	0.41 \pm 0.024 *

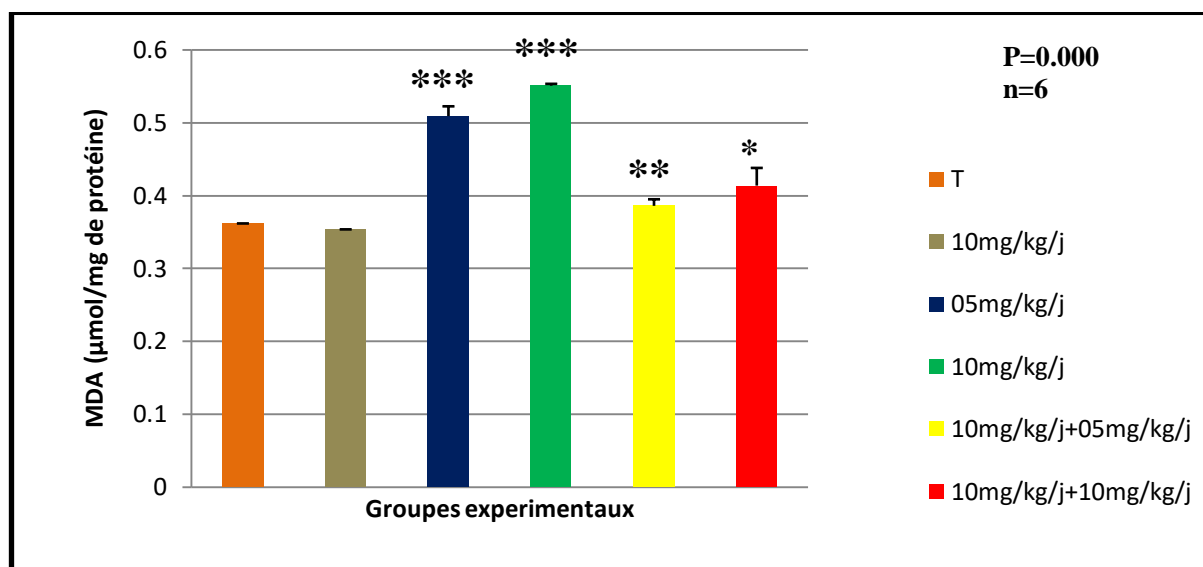


Figure14: Variation du taux de MDA pulmonaire chez les rats témoins, traités par Lambda cyhalothrine, *Melissa Officinalis*, et traités par Lambda cyhalothrine /*Melissa Officinalis* après 90 jours de traitement. (***) $P < 0.001$ (LCT1; LCT2), (**) $P > 0.001$ (ME + LCT1), (*) $P < 0.05$ (ME + LCT).

2.2.1.2. Effet sur le taux de GSH

Cette figure (15) représente la variation de taux de GSH chez les rats traités par la lambda-cyhalothrine et l'extrait de *Melissa officinalis* par rapport les témoins.

Dans notre travaille nous observons une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) chez le lot traitée par lambda cyhalothrine à dose (10mg/kg/jour) aussi une diminution hautement significative ($p < 0.01$) chez le lot traitée par Lambda cyhalothrine à dose (05mg/kg/jour) au contraire on observe une augmentation non significative ($p > 0.05$) chez le lot traite par l'extrait de *Melissa Officinalis* à dose (10mg/kg/jour) par rapport au groupe témoin, aussi une diminution significative ($p < 0.05$) chez le lot traitée par le mixte de l'extrait de *Melissa officinalis* / lambda cyhalothrine aux doses (10mg/kg/jour + 10mg/kg/jour) et une diminution non significative ($p > 0.05$) chez le lot traitée par la combinaison de(10mg/kg/jour + 05mg/kg/jour) .

Tableau 04: Taux de GSH pulmonaire des rats dans les différents groupes expérimentaux.

Groupes	Témoin	10mg/kg/j	05mg/kg/j	10mg/kg/j	10mg/kg/j+ 05mg/kg/j	10mg/kg/j+1 0mg/kg/j
GSH($\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéine)	165.55 \pm 106	164.07 \pm 4.89	135.04 \pm 4.15 **	116.68 \pm 1.16 ***	160.69 \pm 144	154.54 \pm 1.50 *

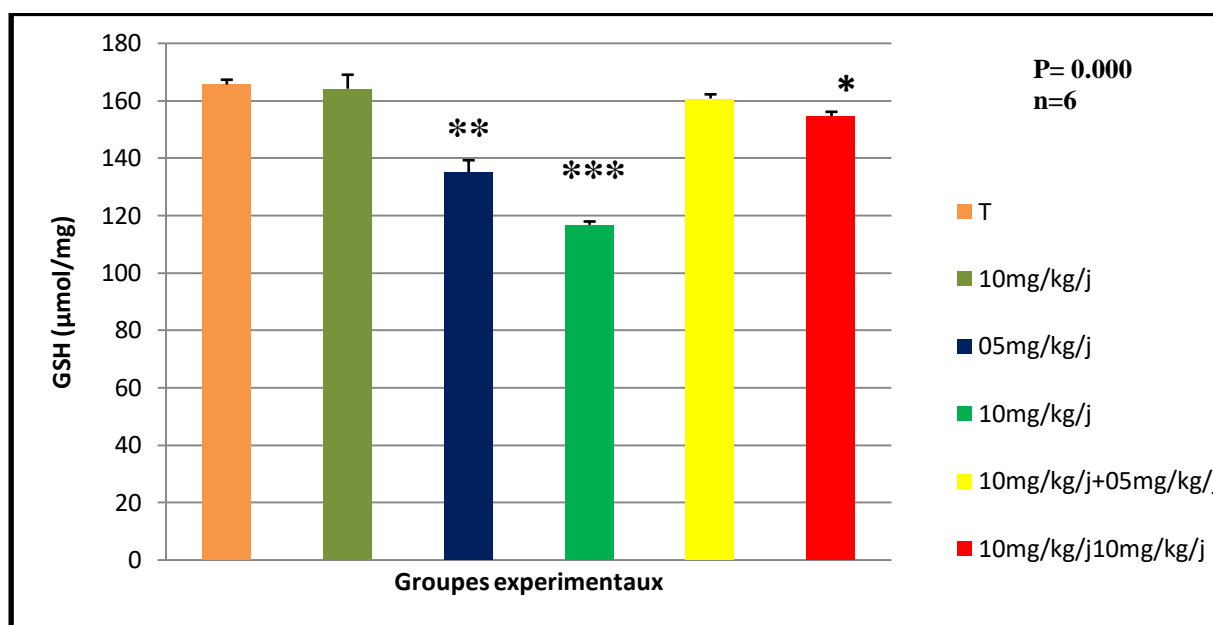


Figure 15 : Variation de teneur pulmonaire en GSH pulmonaire chez les rats témoins, traités par LCT, *Melissa Officinalis*, et traités par LCT/*Melissa Officinalis* après 90 jours de traitement. (***) $P < 0.001$ (EM + LCT2), (**) $P > 0.001$ (EM + LCT1), (*) $P < 0.05$ (LCT2).

2.2.2. Effet sur les paramètres enzymatiques

2.2.2.1. Effet sur l'activité de GPx

Le figure (16) représente la variation de GPx chez les rats traités par la lambda-cyhalothrine et l'extrait de *Melissa officinalis*, Nous observons dans cette présent qui il ya une diminution très hautement significative ($P < 0.001$) dans les lots traitée par lambda cyhalothrine aux doses (05mg/kg/jour, 10mg/kg/jour) par apport au groupe témoin, et une augmentation non significative ($p > 0.05$) dans les lots traitée par le mixte lambda cyhalothrine / l'extrait de *Melissa officinalis* aux doses(10mg/kg/j+05mg/kg/j) et (10mg/kg/j+10mg/kg/j) par rapport au groupe témoin.

Tableau 05: activité enzymatique de GPx pulmonaire des rats dans les différents groupes expérimentaux.

Groupes	Témoin	10mg/kg/j	05mg/kg/j	10mg/kg/j	10mg/kg/j+05mg/kg/j	10mg/kg/j+10mg/kg/j
GPx(μmol /mg de protéine)	0.493 \pm 0.014	0.498 \pm 0.0173	0.438 \pm 0.012 ***	0.438 \pm 0.123 ***	0.479 \pm 0.006	0.479 \pm 0.006

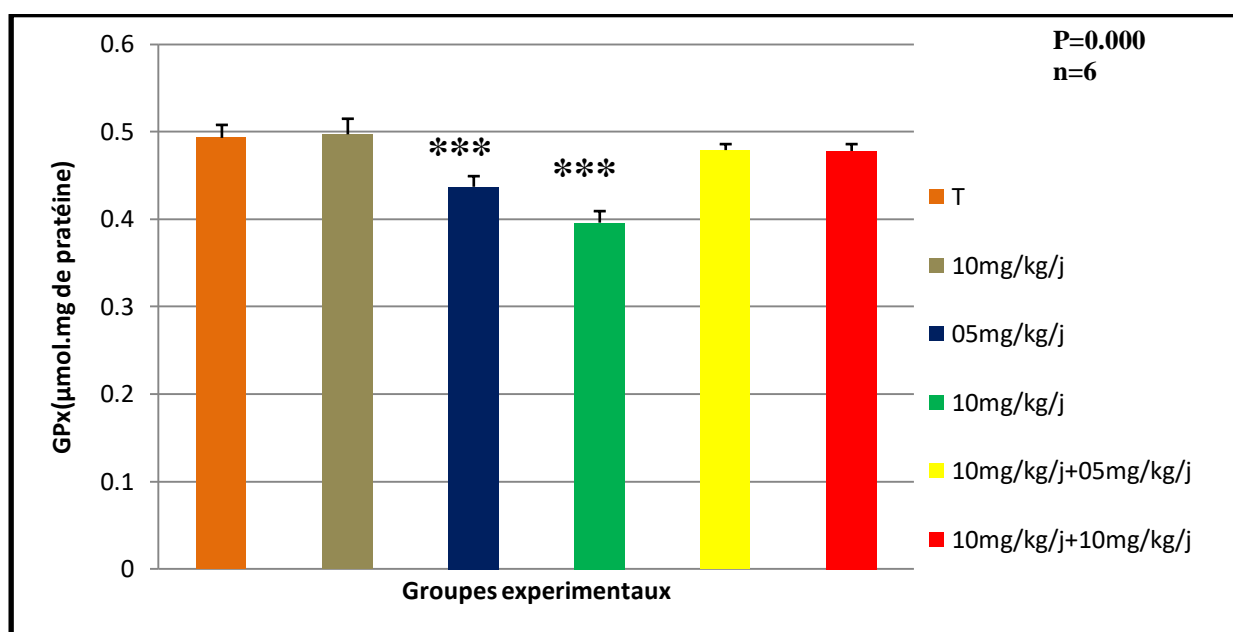


Figure 16 : Activité enzymatique de GPx pulmonaire chez les rats témoins, traités par Lambda cyhalothrine, l'extrait de *Melissa Officinalis*, et traités par Lambda cyhalothrine/ l'extrait de *Melissa Officinalis* après 90 jours de traitement. (***) $P < 0.001$ (LCT1 ; LCT2).

2.2.2.2. Effet sur l'activité de GST

Cette figure (17) représente la variation de l'activité de GST traités par la lambda-cyhalothrine et l'extrait de *Melissa officinalis*, dans notre travaille nous observons qui il y a une augmentation hautement significative ($P < 0.01$) chez le lot traitée par lambda cyhalothrine à dose (05 mg/kg/j), et une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) chez le lot traité par lambda cyhalothrine à dose (10mg/kg/j) par apport ou groupe témoins, et nous observons une diminution significative ($p < 0.05$) chez les lots traité par le mixte (lambda cyhalothrine/ l'extrait de *Melissa officinalis*) aux dose (5mg/kg/j+10mg/kg/j ;10mg/kg/j+10mg/kg/j) par rapport les rats traité par lambda cyhalothrine.

Tableau 05 : activité enzymatique de GST pulmonaire des rats dans les différents groupes expérimentaux.

Groupes	Témoin	10mg/kg/j	05mg/kg/j	10mg/kg/j	10mg/kg/j+0 5mg/kg/j	10mg/kg/j+1 0mg/kg/j
GST(μ mol/mg)	1.372 \pm 0.003	1.354 \pm 0.001 *	1.437 \pm 0.0132 **	1.482 \pm 0.014 ***	1.383 \pm 0.000 *	1.390 \pm 0.000

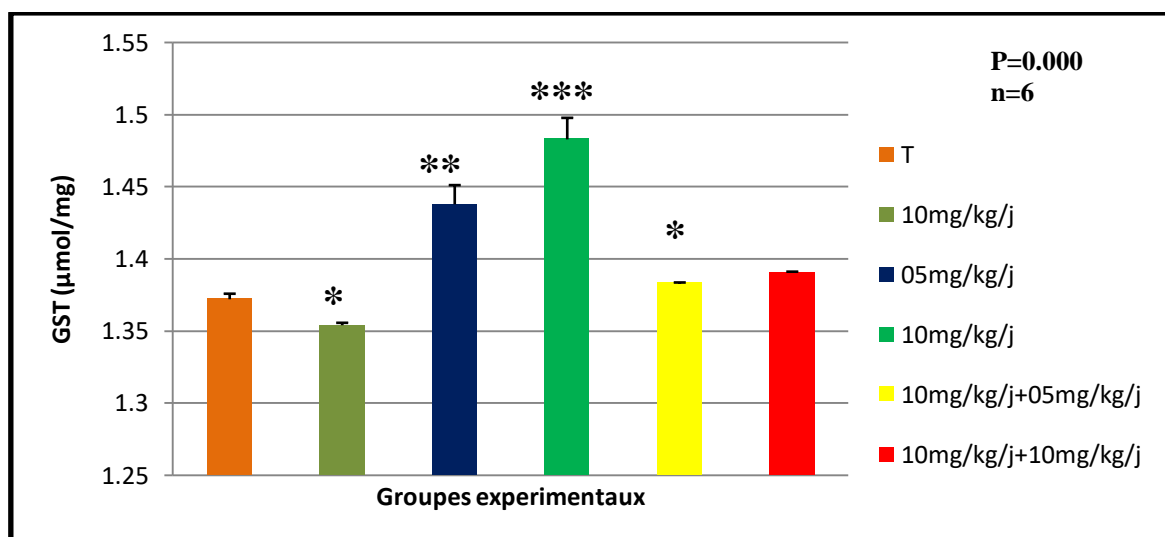


Figure 17 : Activité enzymatique de GST pulmonaire chez les rats témoins, traités par Lambda cyhalothrine ,l'extrait de *Melissa Officinalis*, et traités par Lambda cyhalothrine / l'extrait de *Melissa Officinalis* après 90 jours de traitement.(***) $P < 0.001$ (LCT2), (**)
 $P > 0.001$ (LCT1), (*) $P > 0.05$ (LCT1 ; ME + LCT1 ; EM + LCT2).

2.2.2.3. Effet sur l'activité de CAT

Ce figure (18) représente la variation de l'activité de CAT chez les rats qui traités par la lambda-cyhalothrine et l'extrait de *Melissa officinalis*, nous observons une diminution hautement significative ($p < 0.01$) dans le lot traité par lambda cyhalothrine à dose de (05mg/kg/jour) et une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) dans le lot traite par lambda cyhalothrine à dose (10mg/kg/jour), au contraire nous observons une augmentation significative ($p < 0.05$) chez le lot traitée par 10mg/kg/j de l'extraie de *Melissa officinalis*, aussi une augmentation non significative ($p > 0.05$) chez les lots traite par le mixte lambda cyhalothrine/ l'extrait de *Melissa officinalis* aux dose (10mg/kg/j+05mg/kg/jour) et (10mg/kg/j + 10mg/kg/jour) par apport au groupe témoin.

Tableau 06: activité enzymatique de CAT pulmonaire des rats dans les différents groupes expérimentaux.

Groupes	Témoin	10mg/kg/j	05mg/kg/j	10mg/kg/j	10mg/kg/j+0 5mg/kg/j	10mg/kg/j+1 0mg/kg/j
CAT(μmol /min/mg de protéine)	25.45 \pm 0.130	26.71 \pm 0.86 *	19.64 \pm 0.089 **	17.79 \pm 1.514 ***	24.89 \pm 0.071	24.88 \pm 0.071

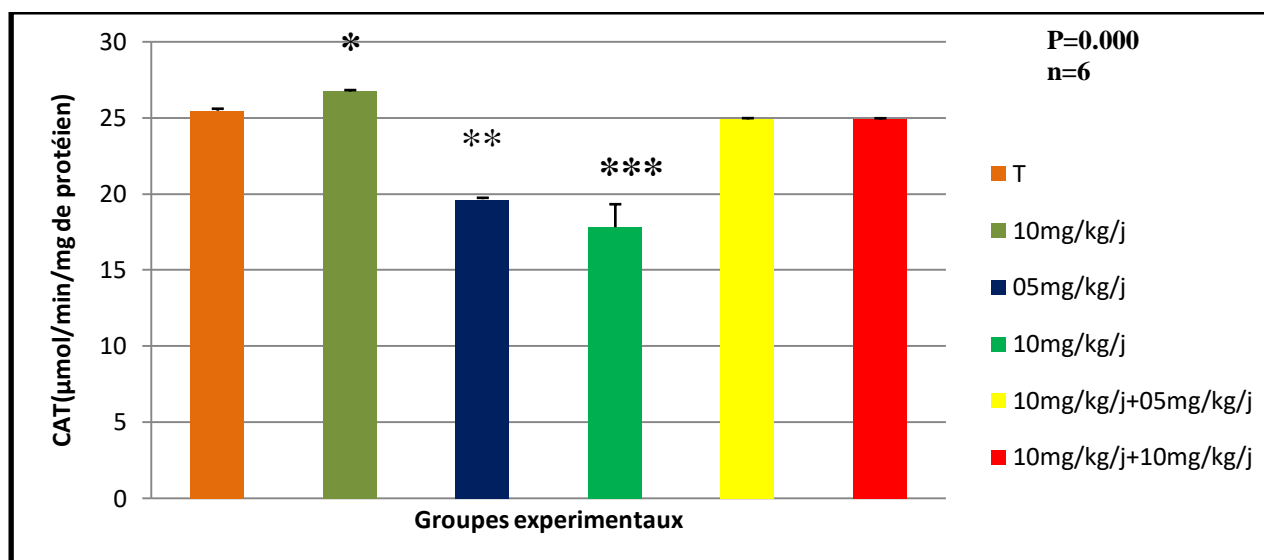
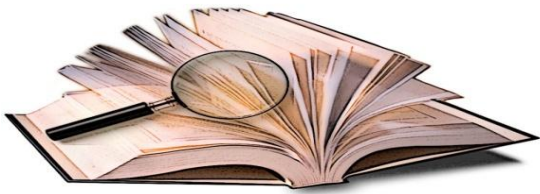


Figure 18 : Activité enzymatique de CAT pulmonaire chez les rats témoins, traités par Lambda cyhalothrine ,l'extrait de *Melissa Officinalis*, et traités par Lambda cyhalothrine/ l'extrait de *Melissa Officinalis* après 90 jours de traitement.(***) $P < 0.001$ (LCT2) ; (**) $P > 0.001$ (LCT1) ; (*) $P < 0.05$ (EM).



Discussion

Discussion:

les pyréthrinoides sont des substances utilisées dans l'agriculture et la santé qui possède un rôle important dans la protection des végétaux et des animaux (**Anadon et al., 2008; Benziane, 2014**).

Plusieurs études menées aux États-Unis ont rapporté une détection d'un certain nombre de pyréthrinoides (la cyfluthrine, la cyperméthrine, la cyhalothrine et la dèltaméthrine). Dans les poussières, les aliments et des environnements résidentiels, donc l'homme peut être exposé aux pyréthrinoides par plusieurs voies. (**khmiri . 2018**)

Les pesticides touchent presque l'ensemble des organes de l'être humain à travers la chaîne trophique ; par conséquent cette étude a été basée sur la pneumotoxicité de lambda cyhalothrine chez les rats *Wistar*, à cause de la similarité qui existe entre les poumons humains et ceux des rongeurs, aussi les rongeurs présentent un bon outil pour étudier les changements pathologiques *in vivo* (**Valcheva et al .,2012**).

La *Melissa officinalis* est une plante herbacée vivace de la famille des Lamiacées, Utilisée en plusieurs domaines : cuisine asiatique, les médicaments, la médecine traditionnelle. (**kothe,2007**).

1. Effets de lambda cyhalothrine sur le poids relatif de poumons

Les résultats de l'évaluation des paramètres pondéraux suggèrent que l'administration de Lambda cyhalothrine aux doses (05mg/kg/jour ; 10mg/kg/jour) provoque une diminution significative ($p < 0.05$) de poids relatif des poumons des différents groupes des rats.

Cette réduction est provoqué par le phénomène anorexique et probablement par une nécrose pulmonaire **Viviana, (2005) Chakroun et al., (2016)**, confirmé par les études de **Gasmi, (2018) et Fetouiet., al.(2009)**.

2. Effet de Lambda Cyhalothrine sur les paramètres de stress dans les poumons des rats et l'effet protecteur de l'extrait de *Melissa Officinalis*

Le Malondialdéhyde plasmatique et un produit terminal de peroxydation lipidique (l'oxydation des acides gras polyinsaturés), l'augmentation de ce marqueur est un signe d'un stress oxydatif.

Dans cette étude le traitement par différentes doses de lambda cyhalothrine nous montre une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) chez les lots traité aux doses (05mg/kg/jour et 10mg/kg/jour) par rapport aux témoins, Ces derniers résultats sont accord

en le travail de **Fetouiet al. (2009)** qui utilisé le même pesticide pendant 03 semaines. aussi d'autre chercheurs **Chiali et al. (2013)** et **Lui et al. (2010)**.

L'élévation de taux de l'MDA est expliquée par la peroxydation lipidique qui mène à une désintégration de la membrane cellulaire favorisant la mort cellulaire, (**Mamett, 1998**).

L'addition de l'extrait de *Melissa officinalis* à la dose de 10 mg/kg/jour neutralise ces effets d'une façon non significative ($p > 0.05$), ce résultat possède le même sens que les résultats de l'étude de **Fetoui et al. (2009)**, qui ont Administré la vitamine C, et l'étude de **Bolkent et al. (2005)**.

Nos études ont donné une diminution significative ($p > 0.001$) de l'activité enzymatique des enzymes (CAT et GPx) chez les lots traités par lambda cyhalothrine aux doses (05mg/kg/jour et 10mg/kg/jour).

Nos résultats sont confirmés par plusieurs travaux, **Fetouiet al. (2009)** et l'étude de **Kilanowicz et al. (2003)** qui utilisé oint les méthylnaphtalènes comme intermédiaires chimiques en synthèse organique, ces résultat sont supportés aussi par le travail de **Yost. (1989)** et l'étude de **Valcheva et al. (2012)** qui utilisé un extrait de baies d'*Aronia melanocarpa* chez les rats.

Cette diminution de l'activité enzymatique de CAT et GPx est due à cause de les molécules des pesticides ou formation des complexes avec les protéines d'une manière générale. et endommager les enzymes y compris ceux à l'activité antioxydant, **Boumaza, (2017)** cette inhibition enzymatique est corrigé après l'addition de l'extrait de *Melissa officinalis*, à dose de (10mg/kg/jour) ce résultat affirmé par l'étude de **Oloyede et al., (2011)**, qui ont évalué la toxicité subchronique de Joloo par voie orale sur des rats albinos . Et l'étude de **Bolkent et al. (2005)** qui ont démontré pour la première fois un effet *in vivo* efficacité antioxydant de l'extrait aqueux de *Melissa officinales* contre le stress oxydatif.

Nous observons aussi une diminution significative ($p > 0.001$) de taux de GSH chez les lots traités par lambda cyhalothrine aux doses (05mg/kg/jour et 10mg/kg/jour).

Nos résultats sont confirmés par plusieurs travaux, **Fetoui et al. (2009)** et **Kilanowicz et al. (2003)**, ces résultats sont supportés aussi par le travail de **Yost, (1989)** et **Valcheva et al. (2012)** qui ont utilisé un extrait de baies d'*Aronia melanocarpa* chez les rats.

Après l'addition de l'extrait de *Melissa officinalis*, à dose de (10mg/kg/jour) nous observons une augmentation de taux de GSH qui affirmée par l'étude de **Oloyede et al. (2011)** et l'étude de **Bolkent et al. (2005)**.

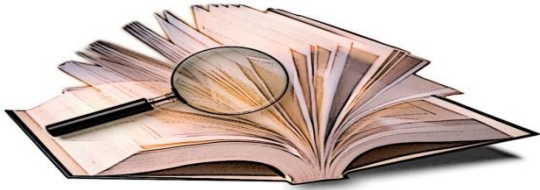
Au contraire de ce résultat, l'étude de **Lima et al.(2003)** qui a utilisé une plante de même famille à la *Melissa officinalis* montre qu'il y a une diminution de taux de GSH.

Les glutathion S-transférases (GST) sont des substances majeures enzymes de détoxification de phase II présentes chez tous les organismes eucaryotes (**Kilanowicz et al., 2003**).

Notre étude montre une augmentation hautement significative ($P < 0.01$) de l'activité de GST chez le lot traité par lambda cyhalothrine à dose 05mg/kg/jour et une augmentation très hautement significative ($P < 0.001$) chez le lot traité par la dose 10mg/kg/jour, ce résultat est argumenté par l'étude de **Kilanowicz et al. (2003)**.

Au contraire dans les lots traités par l'extrait de *Melissa officinalis* nous observons une diminution de l'activité de GST par rapport les lots traités par lambda cyhalothrine. L'extrait amélioré l'équilibre de détoxification et diminué les effets néfastes de lambda cyhalothrine, ce résultat en accord avec **Bruno et al. (2004)** qui a affirmé que l'extrait de *Melissa officinalis* possède un rôle antioxydant et le travail de **Carnat et al.(1997)** qui ont montré que les polyphénols responsables à l'effet antioxydant et l'étude de **Valcheva et al., (2012)** qui ont examiné l'effet de l'AMFJ sur l'activité antioxydantes de polyphénol sur la pneumotoxicité.

Selon les résultats obtenus, notre étude a révélé une perturbation marquée des marqueurs de stress oxydatif (MDA, GSH, GPx, GST, CAT) après l'administration de lambda cyhalothrine au doses (5mg/kg/j , 10mg/kg/j) parce que la lambda cyalothrine capable d'induit un cas de stress par l'augmentation des radicaux libres, l'inhibition enzymatiques et la dégradation cellulaire. Notons que le traitement par *Melissa officinalis* (10mg/kg/j) présent moindre d'effet que ceux observés après la contamination au lambda cyhalothrine seul. Ceci est expliqué par le pouvoir antioxydant de *Melissa officinalis* à réduire le stress oxydant permet de cette façon la protection contre les effets toxiques du lambda cyalothrine.

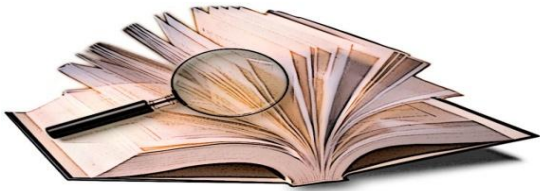


Conclusion et perspective

L'objectif de la présente étude était d'évaluer la pnomototoxicité de pesticide qui il est lambda cyhalothrine chez le rat de *Wistar* qui provoque une perturbation des paramètres de stress oxydant qui diffèrent en fonction de la dose d'administration et l'effet opposé de l'extrait de *Melissa officinale* sur cette toxicité qui possède un rôle de détoxification a la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que le gavage de Lambda cyhalothrine par voie orale à dose 05mg/kg/jour et 10mg/kg/jour du poids corporel chez les rats mâles adultes a induit des perturbations sur les paramètres de stress oxydatif des rats, nous avons trouvé qu'il y'a une perturbation au Niveau des paramètres évaluer conclure comme suivant :

- Une diminution significative au poids relative d'organe.
- une augmentation très hautement significative dans le taux de MDA.
- une diminution très hautement significative dans l'activité de GPx et CAT.
- une diminution significative et non significative dans le taux de GSH.
- une augmentation très hautement significative et hautement significative dans le taux de GST.
- une correction des perturbations provoquées après l'addition du lambda cyhalothrine.

Et comme perspective, il est nécessaire de faire des études histopathologies et Physiologiques, même comportementales pour bien étudier les effets de cette pyrèthrine.



Références

A

- **Amiot. MJ., C. Riollet. C. et Landrier. JF.** 2009. Polyphénols et syndrome métabolique. *Médecine des maladies métaboliques*. **3 (5).476-482.**
- **Anadon . A, Martinez-Larranaga Q.M.R, Martinez M.A.** 2009. Use and abuse of pyrethrins and synthetic pyrethroids in veterinary medicine. *The Veterinary Journal* **182 (1) 7–20.**
- **Anadon. A, Martinez. M, Martinez. M.A, Diaz. M.J., Martinez-Larranaga. M.R.** 2006. Toxicokinetics of lambda-cyhalothrin in rats. *Toxicology Letters* **165 (2006) 47–56.**
- **Adimi .L.Z.** 2018. Contribution à l'étude des effets antimicrobiens et antioxydants d'une plante médicinale : la Mélisse (*Melissa officinalis*). Thèse Doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif. **289p .**
- **Atsdr.** 2003. Toxicological profile for pyrethrins and pyrethroids. Atlanta, GA: Agency for toxic substances and disease registry.

B

- **Baldi. I., Cordier. S., Coulmoul. X., Alexis. Elbaz. A., Laurence. Gamet-payrastré. L., Lebailly. P., ... Van Maele-Fabry. G.** 2013. Pesticides : Effets sur la santé. (doctoral dissertation, Institut national de la recherche médicale (ISERM)).
- **Benziane. A.** 2014. Effet d'un régime enrichi en chlorpyrifos chez le rat Wistar : étude de l'activité enzymatique des cholinestérases comme indicateur biologique. thème de Master, université de Tlemcen. **51p.**
- **Bolkent.S ., Yanardag . R., Karabulut-Bulan . O., Yesilyaprak.B.** 2005. Protective role of *Melissa officinalis* L. extract on liver of hyperlipidemic rats: A morphological and biochemical study, *Journal of Ethnopharmacology* **99 (3) 391–398.**
- **Bouakaz. I.** 2006. Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister, Batna.
- **Bruneton.** 1999. Pharmacognosin Phytochimie Plantes médicinales. 3ème édition, Edition TEC & DOC, **531-532.**
- **Bruno. M. Silvia. P., Alessandra. P., Antonella. R., Monica. D., Cakmak I and Horst W..J** 1991. Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*) *Physiol. Plantarum*. **83: 463-468.**
- **Beal M. F.** 2002. Oxidatively Modified Proteins in Aging and Disease. *Free Radical Biology*

and Medicine. **32(9). 797-803.**

-**Beaudeau .J.L., Delattre J., Therond P., Bonnefont-Rousselot D., Legrand A., Peynet J.**2006. Oxidative stress in the atherosclerotic process. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée* **21. 144–150.**

-**Bolkent. S., Yanardag .R., Karabulut-Bulan .O. et Yesilyaprak.B .B.** 2005. Rôle protecteur de l'extrait de melissa *Officinalis L.* sur le foie de rats hyperlipémiqmes: étude monophologique et biochimique. *Journal of ethnopharmacology.* **99(3).391-398.**

-**Boumaza .A.** 2017.Etude analytique et épidémiologique de la toxicité des pesticides utilisés dans l'Est Algérien. Thèse Doctorat, Université Mentouri de Constantine. **98p.**

-**Bounihi. A.**2016. Criblage phytochimique, Étude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentha rotundifolia* (Lamiacées). Thèse Doctorat. Université Mohamed V, **299p.**

C

- **Carnet .A .P., Carnet A., Fraisse D. and Lamaison J. L.** The aromatic and polyphenolic composition of lemon blam (*Melissa Officinalis L. subsp. Officinalis*- tea. *Pharmaceutica Acta Helveyiae.* **72(5). 301-305.**

- **Caroline. T.**2009. La Melisse officinalis, *melissa officinalis L.* thèse doctorat . université de nantes. **136p.**

- **Cadet. J., Delatour. T., Douki. T., Gasparutto. D., Pouget. PJ., Ravanat. JL. et Sauvaigo.** 1999. Les radicaux hydroxyles et les dommages à la base de l'ADN. Recherche par mutation/ Mécanismes fondamentaux et moléculaires de la mutagenèse.**424 (1-2).9-21.**

- **Casetta .I, Govoni .V, Granieri . E.** 2005. Oxidative stress, antioxidants and neurodegenerative diseases. *Curr Pharm,* **11(52): 20-33**

- **Çelik Q., Mazmanci B., Çamlica Y., Çomelekglu Ü., Askin. A.** 2005. Evaluation of cytogenetic effects of lambda-cyhalothrin on Wistar rat bone marrow by gavage administration. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **61: 128–133.**

- **Chakroun . M., Banyuls .N., Bel .Y., Escriche .B. et Ferré .J.,** 2016. Bacterial Vegetative Insecticidal Proteins (Vip) from Entomopathogenic Bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* June. Vol. 80 no. (2) **329-350**

- **Chiali .F .Z., Merzouk H., Merzou .S. A., Medjdoub A. and Narce M.** 2013.Chronic low level metribuzin exposure induces metabolic alterations in rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **106 .38–44.**

- **Christelle. k .** 2006. Oxygen, oxidative stress and anti oxidant supplementation.

- **Cillard, J. and Cillard, P.**1980. Prooxidant effect of alpha-tocopherol on essential fatty acids in aqueous media, *Ann. Nutr. Aliment.* **34: 579-591.**

D

- **Descat F.**2002. Hématologie Du Rat: Hémogramme et Myélogramme. Thèse doctorat..Ecole nationale vétérinaire de Toulouse.

-**DeBretagne. O. R. d. S.** 2001. Effets chroniques des pesticides sur la sante: état actuel des connaissances.

-**Delahaie J.V.** 2002. Postmodernité et comportements en enseignement/ apprentissage du FLE In la linguistica francesa en al nuevomilenoi: Universidad de Lleida. **p. 115**

-**Descat .F.**2002. Hématologie Du Rat: Hémogramme et Myélogramme. Thèse Doctorat. Ecole nationale vétérinaire de Toulouse.

E

- **Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H. and Jurgens G.** 1992. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radical Biology Medicine.* **13: 341.**

F

- **Fadel F., Chebli B., Tahrouch S., Benddou A., et Hatimi A.** 2011. Activité antifongique de ceratonia silique sur la croissance in vitro de penicillium digitatum. *Bulletin de la Société de pharmacie de bordeaux.***150.19-30.**

- **Festing, M.F.W.** 1979. Suitability of the Rat for Different Investigations. In: *Inbred and Genetically Defined Strains of Laboratory Animals. Part I. Mouse and Rat* (P.L Altman, *Exper. Biol.* Bethesda, MD. pp. **237-238.**

- **Flohe & Gunzler.** 1984. Analysis of glutathione peroxidase, *Methods Enzymol* **105: 114-121.**

-**Favier A.** 2006. Stress oxydant et pathologies humaines. Elsevier Masson . **p. 390-396.**

-**Fernandes-Ferreira P. C. A, Pereira-Wilson M. A.,** 2005. Evaluation of toxic/protective effects of prévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat. Thèse Doctorat, Université de Ramade, F. **pp:241-247.**

-**Fetoui H., Garoui E. M. end Zeghal N.**2009.Lambda-cyhalothrin-induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats: Ameliorative effect of ascorbic acid,2008, *Experimental and Toxicologic Pathology* **61.189–196.**

- **Frank. C. L.** 1992. Toxicologie: Données générales, procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque. Masson.

G

- Garold S. Yost G. S.**,1989. Mechanisms of 3-Methylindole Pneumotoxicity, Chemical research in toxicology.2 55-.273-279.
- Gasmi S.** 2018. Neurotoxicité de deux pesticides (Acetamipride et Deltaméthrine) et la prévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat, Thèse Doctorat, Université de Tébessa. 217p.
- Gilles, Raymond, and Michel Ancil.** 2006. Physiologie animale. De Boeck Supérieur.

H

- **Haleng..J. , J. Pincemail . J.O.. Defraigne , Charlier .C., Chapelle .J.P.** 2007.Le Stress oxydant. Revue médicale de Liège.62(10).628-38.
- **Hegnauer R.** 1966.Chemota. xonomie der pflanzen, Birkhäuser Verlag Basei. Stuttgart.
- Habig W.H., Pabst M.J, Jakoby W.B .**1 974. Glutathione-S-transferase the first step in mercapturic acid formation. Journal of Biology and Chemistry **249: 7130-7139.**
- Hans W.. Kothe.** 2007. 1000 Plantes aromatiques et médicinales. Terreséd, 6-7
- He. L. M., Troiano J., Albert Wang A. and Goh K.** 2008. Environmental Chemistry, Ecotoxicity, and Fate of Lambda-Cyhalothrin. In Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. Springer .**P71-91.**
- Hennebelle T. , Sahpaz S. , Bailleul F.** 2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie . Springer-Verlag .**P 3-6.**
- Institut de veille sanitaire.** 2011.Pesticides pyréthrinoides.

K

- **Khmiri R .** 2018. Lambda-cyhalothrine comme pesticide privilégié en milieu agricole: étude la Toxicocinétique des Biomarqueurs pour le suive de l'exposition chez des volontaires. **P 87.**
- **kilanowicz A.N.N.A., sapota A.N.D.R.Z.E. and darago A.D.A.D.** The role of glutathione in metabolism of selected dimethylanaphthalenes in rat , International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health. **16(3): 265 — 270.**
- Knut Schmidt-nielsen,** 1998. Physiologie animale: adaptation et milieu de vie, professeur de physiologie, Département de zoologie, Durke University.

L

- **Liu T. Y., Chena Y., Wang W. Y., Ji LL., Zheng W T.**2010. Pyrrolizidine alkaloid isoline-induced oxidative injury in various mouse tissues. *Expérimental and Toxicologic Pathology* **62** .51–257.
- Lamaison J.L., Petitjean-Freytet C., Carnat A.**1991. Lamiacées médicinales à propriétés Antioxydants, sources potentielles d'acide rosmarinique. *Pharm. ActaHetv.* **66(7): 185-188.**

M

- **Manallah, Ahlem. A..** 2012. Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea L.* Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas- Sétif, **87p.**
- **Marfak. A.** 2003. Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation de depsides. thèse docteur de l'université de limoges.**200p.**
- **María R., Martínez-Larrañaga. MR., Anadon. A., María., Martínez.MA, Martínez. M., Castellano. VJ. And Díaz. M.J.**2003. 5-HT loss in rat brain by type II pyrethroid insecticides. *Toxicology and industrial Health* **19: 147.**
- **Martínez M. A. , Ares I., Rodríguez J .L., Marta Martínez M., Roura-Martínez D., Castellano V. , Lopez-Torres B, Martínez-Larrañaga M. R., Anadón A.**2018. Pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin induces hepatic cytochrome P450 enzymes, oxidative stress and apoptosis in rats. *Science of The Total Environment.* **631. 1371-1382.**
- **Marongiu. B., Porcedda .S., Piras. A., Rosa. A., Deiana. M., and Dessi. M. A.** 2004. Antioxidant Activity of Supercritical Extract of *Melissa officinalis* Subsp. *officinalis* and *Melissa officinalis* Subsp. *Inodora*, *Phytotherqpy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of National Product Derivatives.***18 (10).789-792**
- **Marnett L. J.**1999. Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdéhyde. *Mutation Research* **424 .83–95.**
- **Marchandise, X., & Collège national des enseignants de biophysique et de médecine nucléaire (France).** 2006. *Biophysique: pour les sciences de la vie et de la santé.* Omniscience. or an other way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolisme* **20 165–177.**

-**Mohammedi, Z.** 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles mouse Leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letter* **40**: 257-264.

O

- **Oloyede A., Okpuzor J., Omidiji O., and Odeigah P.** 2011. Evaluation of sub-chronic oral toxicity of Joloo: A traditional medicinal decoction, *Pharmaceutical Biology*. **49(9)**: 936–941.

S

- **Samiran .M., Mat .M.S, Gjosh RS, Karmakae. D.B.**2010. effect of lambda cyhalothrin on rats: An acute toxicity study. West Bengal university of animal and Fishery Sciences. January 2010.

- **Servais S.**2004. Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l’ozone : Effets de l’âge et d’une supplémentation en oméga-3.2006. Doctoral dissertation. Université Claude Bernard - Lyon I . p 127.

T

-**Teuscher E., Antor R., Lobstein . A.** 2005. Plantes aromatiques: Epices, aromates et huile essentielles. Edition TEC&DOC(**300-303**).

V

- **Valcheva-Kuzmanova S.** 2012, Effect of aronla melanocarpa fruit juice on the activity of antioxidant enzymes in a rat model of amiodaroneinduced pneumotoxicity. *J Biomed*. **5(2)**.

- **Vijerberg. H.P et Berchen. J.V.D.**1982.Action of pyrethroid insecticides on the vertebrate nervous system. *Neuropathology and applied neurobiology*.**8(6)**.421- 440.

- **Viviana . P.** 2015. Keynote: "Revisiting the European maerl and rhodolith beds in the 21 century".

W

-**Waugh. A., Grant. A., Cosserat. J., & Scott. J.** 2011. Ross et Wilson. Anatomie et

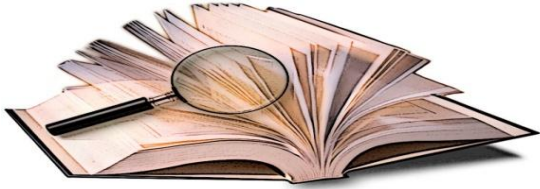
physiologie normales et pathologiques. Elsevier Masson.

-**Weckbercker .G and Cory .J.G .** 1988. Ribonucleotide reductase activity and growth of Glutathione-depended mouse leukemia L 1210 cell in vitro. *Cancer lettres*.**40 (3). 257-264.**

Y

- **Yost G. S.**1989. Mechanisms of 3-Methylindole Pneumotoxicity. *Chemical research in toxicology* .**2(5).273-279.**

-**Youla .A., Latrous .I. E.** 2017. Contribution à l'étude phytochimique des flavonoïdes chez l'espèce (*Melissa Officinalis L.*) et évaluation de leur pouvoir antibactérien. thème de Master, Université de Constantine.**54p.**



Annexe

1-Matériel utilisé dans les différentes étapes de l'étude

1-1-Matériel chimique

- * Eau distillée.
- * TCA (Trichloro acétique).
- * Anthrone.
- * Acide sulfurique.
- * Acide orthophosphorique (à 85%).
- * Ether.
- * Chloroforme.
- * Ethanol (à 95%).
- * BSA (Albumine sérum de boeuf).
- * Sodium phosphate dibasique.
- * ASS (Acide sulfosalicylique).
- * Sodium phosphate monobasique.
- * Tris.
- * HCl.
- * Na OH.
- * Méthanol absolu.
- * EDTA (Acide éthylène diamine tétracétique).
- * DTNB (l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque).

1-2-Grand matériel et appareils

- * Centrifugeuse (SELECTA).
- * Balance analytique
- * Balance de précision (KERN)
- * Etuve (HERAEUS).
- *pH mètre.
- * Agitateur magnétique (WITEG).
- *Matériel de dissection.
- *Centrifugeuse sigma 1-15.
- *Réfrigérateur.
- *Bain marie (MEMMERT).
- *Agitateur Vortex (THERMOS).
- *Spectrophotomètre (UV mini 1240, SHIMADZU)

1-3-Petit matériel

- * Mortier + Pilon (Broyeur manuel).
- *Pissette
- *Verre de montre.
- * Spatule.
- *Baromagnétique.
- *Micropipettes de 100µl et 1000µl.
- *Pipettes graduées.
- *Portoirs.
- *Tubes à essai.
- *Tubes secs en verre et en plastique.

- *Tubes eppendorf pour les centrifugeuses sigma.
- *Cuves pour la spectrophotométrie (en plastique et en quartz).
- *Papier d'aluminium.
- *Papier Wattman N° 01.
- *Becher.
- *Erlenmeyers.
- *Entonnoirs.
- *Eprouvettes graduées.
- * Fioles jaugées.
- *Flacons en verre

2-5-Dosage du glutathion (GSH) A-PBS (Tampon phosphate salin) (0,2M, pH 6,4)

On ajoute **13,25ml** du sodium phosphate dibasique Na_2HPO_4 (**35,61g/l**) et **36,75ml** du sodium phosphate monobasique NaH_2PO_4 (**27,6g/l**), puis les deux solutions sont diluées à **100ml** d'eau distillée.

B-Solution d'acide sulfosalicylique 0,25% Dissoudre **250mg** d'acide sulfosalicylique dans **100ml** d'eau distillée.

C-Solution Tris/EDTA (0,4M, pH 9,6) Dissoudre **12,114g** de Tris et **1,871g** de l'EDTA (Acide éthylène diamine tétracétique) dans **250ml** d'eau distillée et ajuster le pH à **9,6** en ajoutant HCl ou NaOH.

D-Solution DTNB (Acide dithionitrobenzoïque) (10 mM) Dissoudre **200mg** de DTNB dans **50ml** de méthanol absol



République Algérienne Démocratique et Populaire
 Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
 Université de Larbi Tébessi -Tébessa-
 Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie



Déclaration sur l'honneur de non-plagiat

(À joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je, soussigné(e).

Nom, prénom : Djareck Lamia

Régulièrement inscrit (e) : Biologie

N° de carte d'étudiant : 14/34 02 31 39 / 2014

Année universitaire : 2018/2019

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Science biologique

Spécialité : pharmaco-Toxicologie

Intitulé du mémoire :

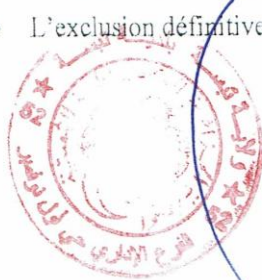
Dreumototoxicité de lambda Cyhalothrine
 chez Des Rats Wistar et L'effet opposé de Melissa
 officinalis

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué de vent le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité de plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de la refaire sur un sujet différent.
- L'exclusion d'une année du master.
- L'exclusion définitive.



16 جوان 2019
 امضاء السيد : زياتي الهادي
 رئيس مجلس الطلبة

Fait Tébessa, le 16/06/2019

Signature de l'étudiant(e).

Djareck Lamia



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Larbi Tébessi - Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة
FSESNV

كلية العلوم الطبيعية والحيوية
FACULTE DES SCIENCES EXACTES
ET DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Déclaration sur l'honneur de non-plagiat

(À joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e).

Nom, prénom : ABZOUZ Henry

Régulièrement inscrit (e) : Biologie

N° de carte d'étudiant : 14/34.02.44.78/2014

Année universitaire : 2018/2019

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Science Biologique

Spécialité : pharmaco - Toxicologie

Intitulé du mémoire :

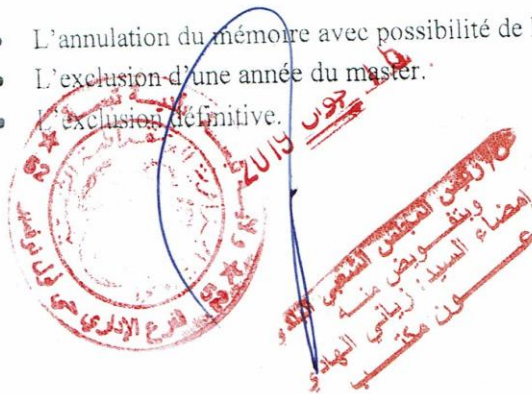
pneumotoxicité de l'amblycylhaloquine chez les rats résistants et l'effet opposé de melissa officinalis

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité de plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de la refaire sur un sujet différent.
- L'exclusion d'une année du master.
- L'exclusion définitive.



Fait Tébessa, le 16/06/2019

Signature de l'étudiant(e).