



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



Département : Biologie appliquée

Mémoire de master

Domaine : Science de la Nature et Vie (SNV)

Filière : Sciences biologiques

Spécialité: Toxicologie

Thème :

**Effet protecteur de punica garantum de  
contre la toxicité de la deltaméthrine au  
niveau cérébrale chez les souris**

Présenté par:

M<sup>elle</sup> MEZHOUDI Souhaila

M<sup>elle</sup> OUNIS Khouloud

Devant le jury:

|                       |       |                       |            |
|-----------------------|-------|-----------------------|------------|
| M.SOLTANI.Nadjmeddine | M.A.A | Université de Tébessa | Présidente |
| M. GASSMI Salim       | M.A.B | Université de Tébessa | Examineur  |
| M.MENACEUR Fouad      | M.C.A | Université de Tébessa | Promoteur  |

Date de soutenance : 19/06/2019

Note : .....

Mention : .....

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## ***REMERCIEMENT***

Tout d'abord, nous remercions le DIEU, notre créateur tout puissant de nous Avoir donné la force, la volonté et le courage de mener ce modeste travail à terme.

Nous adressant nos respects et reconnaissance à notre encadreur **Dr, MENACEUR F**, pour avoir accepté de nous encadrer, pour son aide, ses précieux conseils, ses orientations et pour toute l'attention qu'il nous a prodigués tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nous adressons nos sincères remerciements à **MONSIEUR.SOLTANI** pour l'honneur qu'elle nous fait de présider le jury de ce mémoire. Nous tenons à remercier vivement, **MONSIEUR.GASMI S**, de nous faire l'honneur d'accepter d'examiner ce modeste travail.





*Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à:*

*Mes parents :*

La lumière de ma vie et prunelle de mes yeux, Ma très chère maman **HAFSIA**, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, **ALI** qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venus de toi.

Mes frères, et A mes chères sœurs qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

Mes amies **ASMAKHEMISSACHAIMA** à qui nous souhaitons le succès, pour l'amitié qui nous a toujours unis.

A toute ma grande famille, précisément **khalile** et **wassim** et mes cousines.

Souhaila



*Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à:*

*Mes parents :.*

Mon père, **NASER** qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venus de toi.

A la mémoire de ma mère **SAMOUNA** pour m'avoir donné la vie et la joie de vivre. Vos conseils et bénédictions n'ont jamais fait défaut, que Dieu le tout puissant vous accorde son paradis éternel (amin).

A ma chère sœur **KAMILIA** et mon frère **ANOUAR** qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité. Sans oublier ma puce **ROUROU**

A mon cher mari **HOUSSEM** qui a su m'épauler, me pousser dans mes choix, et qui m'encourage toujours à aller plus loin, Ta patience m'a toujours égayé même dans les moments les plus durs. Sans toi je ne serai pas arrivée jusque là

Mes amies **KHEMISSA CHAIMA** à qui nous souhaitons le succès, pour l'amitié qui nous a toujours unis.

A toute ma grande famille, précisément **LAMIA** ma cousine **MIMOUNA**.

## LISTE DES ABRÉVIATIONS :

|                                   |  |
|-----------------------------------|--|
| ✚ AIA :                           | auxine   |
| ✚ AChE :                          | Acétylcholinestérase                                       |
| ✚ ADN :                           | Acide désoxyribonucléique                                  |
| ✚ ATP :                           | Adenosine triphosphate                                     |
| ✚ BHA :                           | hydroxyanisolebutylé                                       |
| ✚ BBC :                           | (Bleu Brillant de Coomassie)                               |
| ✚ BHT :                           | Hydroxytoluènebutylé                                       |
| ✚ CAT :                           | Catalase   |
| ✚ CO :                            | monoxyde de carbone  |
| ✚ DM :                            | Deltamethrine  |
| ✚ DL50 :                          | dose létale que tue 50%                                    |
| ✚ DSET :                          | dose sans effet toxique                                    |
| ✚ ERO :                           | espèces réactives de l'oxygène                             |
| ✚ EDTA :                          | Acide Ethylène-Diamine-Tétra acétique                      |
| ✚ ERN :                           | espèces réactives de l'azote                               |
| ✚ FAO :                           | Organisation Mondiale pour l'Alimentation et l'Agriculture |
| ✚ GABA :                          | Acide gamma-aminobutyrique                                 |
| ✚ GSSG :                          | Glutathion oxydée  |
| ✚ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : | Peroxyde d'hydrogène                                       |
| ✚ HOCl :                          | Acide hypochlorique  |
| ✚ H <sup>+</sup> :                | L'ion hydrogène  |
| ✚ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : | Peroxyde d'hydrogène                                       |
| ✚ HOCl :                          | hypochlorure   |
| ✚ HCl :                           | Chlorure d'hydrogène                                       |

|                                      |   |
|--------------------------------------|---|
| ✚ MDA :                              | <b>Acide Malon-dialdéhyde</b>                             |
| ✚ Mg :                               | <b>Milligramme</b>  |
| ✚ Mn :                               | <b>Manganèse</b>  |
| ✚ Mmol :                             | <b>Milimole</b>   |
| ✚ MPO :                              | <b>Myéloperoxydase</b>                                    |
| ✚ NA <sup>+</sup> :                  | <b>Ion Sodium</b>   |
| ✚ Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> : | <b>Hydrogéo-phosphate de sodium</b>                       |
| ✚ NaCl :                             | <b>Chlorure de sodium</b>                                 |
| ✚ NADH :                             | <b>Nicotinamide-adénine dinucléotide réduit</b>           |
| ✚ NADPH :                            | <b>Nicotinamide-adénine dinucléotide-phosphate réduit</b> |
| ✚ NO :                               | <b>Monoxyde d'azote</b>                                   |
| ✚ O <sub>2</sub> :                   | <b>Oxygène</b>  |
| ✚ O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> :     | <b>Radical superoxyde (anion superoxyde)</b>              |
| ✚ OH :                               | <b>Fonction hydroxyle</b>                                 |
| ✚ PBS :                              | <b>Phosphate Buffer Solution (Tampon phosphate)</b>       |
| ✚ PC :                               | <b>Poids corporel</b>                                     |
| ✚ PCB :                              | <b>Biphénylpolychlorés</b>                                |
| ✚ PRC :                              | <b>Poids relatif du cerveau</b>                           |
| ✚ R' :                               | <b>Radicale libre</b>                                     |
| ✚ RH :                               | <b>Radical libre oxygéné</b>                              |
| ✚ ROH :                              | <b>Alcool</b>   |
| ✚ ROOH :                             | <b>Hydroperoxyde organique</b>                            |
| ✚ ROS :                              | <b>Reactiveoxygenspecies</b>                              |
| ✚ Se :                               | <b>Sélénium</b>   |
| ✚ SOD :                              | <b>Super oxyde-dusmitase</b>                              |
| ✚ T :                                | <b>Témoin</b>   |

- ✚ TBA :** **Acide thiobarbiturique**
- ✚ TCA :** **Acide trichloroacétique**
- ✚ Tris :** **Trishydroxyméthylaminométhane**
- ✚ Zn :** **Zinc**



## Liste des tableaux

| N=° de Tableau     | Titre de Tableau  | page      |
|--------------------|---|-----------|
| <b>Tableau 01.</b> | Les principales espèces réactives de l'oxygène générées dans les Systèmes biologiques | <b>21</b> |
| <b>Tableau 02.</b> | Classificaton de ( <i>Punica granatum</i> . L)  | <b>31</b> |
| <b>Tableau 03.</b> | Classification de <i>musmusculus</i>  | <b>37</b> |

## Liste des figures

| N°= de Figure    | Titre de Figure   | page |
|------------------|---|------|
| <b>Figure 01</b> | Estimation des rendement mondiaux moyens selon l'utilisation ou non de produits phytopharmaceutiques par rapport au rendement maximal | 5    |
| <b>Figure 02</b> | Exemples des insecticides appartenant aux types I et II des pyrèthroïdes  | 7    |
| <b>Figure 03</b> | Formule chimique de deltaméthrine   | 11   |
| <b>Figure 04</b> | Schématisation des modes de pénétration et du devenir des pesticides dans l'organisme   | 12   |
| <b>Figure 05</b> | Action sur la transmission axonale  | 13   |
| <b>Figure 06</b> | Mécanisme de transmission synaptique de l'influx nerveux  | 16   |
| <b>Figure 07</b> | Les cibles principales des pesticides   | 19   |
| <b>Figure 08</b> | Résumé des sources exogènes et endogènes de radicaux libres. Stress oxydatif et ses conséquences                                      | 22   |
| <b>Figure 10</b> | Arbres du grenadier   | 29   |
| <b>Figure 11</b> | Les plus grands pays producteurs des grenades au monde  | 30   |
| <b>Figure 12</b> | Image des fleurs et feuilles d'un grenadier   | 32   |
| <b>Figure 13</b> | photos des souris <i>mus musculus</i>   | 36   |
| <b>Figure 14</b> | les écorces de grenadier  | 36   |
| <b>Figure 15</b> | Protocole de réalisation de l'extrait de ( <i>Punica granatum.L</i> )   | 39   |
| <b>Figure 16</b> | Schéma récapitulatif du protocole expérimental.   | 41   |
| <b>Figure 17</b> | Evaluation du gain de poids corporel (GP) après 15 jours de traitement par le pesticide et l'extrait                                  | 47   |
| <b>Figure 18</b> | Evolution du poids relatif du cerveau (PRC) chez animaux après 15 jours de traitement par le pesticide et l'extrait                   | 48   |
| <b>Figure 19</b> | Variation du taux de protéines dans le cerveau après 15 jours de traitement par le pesticide et l'extrait                             | 49   |

|                  |   |    |
|------------------|---|----|
| <b>Figure 20</b> | Variation du taux de glucide dans le cerveau après 15 jours de traitement par le pesticide et l'extrait | 50 |
| <b>Figure 21</b> | Variation du taux de lipides dans le cerveau après 15 jours de traitement par le pesticide et l'extrait | 52 |
| <b>Figure 22</b> | Variation du taux de GPx dans le cerveau après 15 jours de traitement par le pesticide et l'extrait     | 53 |
| <b>Figure 23</b> | Variation du taux de MDA dans le cerveau après 15 jours de traitement par le pesticide et l'extrait     | 54 |
| <b>Figure 24</b> | Variation du taux de l'ACH dans le cerveau après 15 jours de traitement par le pesticide et l'extrait   | 55 |

# Table de Matière

Remerciement

Dédicace

Liste des abreviations

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Table de Matière

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction .....01

## Partie I synthèse Bibliographique

### Chapitre I: L'hémoglobine

1 .1.Définition 03

1.2. Hémoglobine chez les espèces vivantes 03

1 .3. Structure de l'hémoglobine 03

1.3.1 Hème 04

1.3.2 Biosynthèse de l'hème 05

1.4. Répartition des hémoglobines normales de l'homme 05

1.5. Fonction de l'hémoglobine 06

1.6 . Gènes des globines 07

1.6 .1 Groupe des gènes de type  $\alpha$  08

1.6.2 Groupe des gènes de types  $\beta$  09

### Chapitre II : Les hémoglobinopathies

2.1. Généralités sur les hémoglobinopathies 12

2.2. Hémoglobinoses S ou drépanocytose 12

|   |    |
|---|----|
| 2.2.1 Définition  | 12 |
| 2.2.2 Historique  | 13 |
| 2.2 .3 Epidémiologie  | 13 |
| 2.2.4 Physiopathologie  | 14 |
| 2.2 .5 Polymérisation des molécules d'hémoglobine drépanocytaire      | 15 |
| 2.2.5 .1 Mécanismes de la polymérisation                              | 15 |
| 2.2.5.2 Facteurs modulateurs de la polymérisation                     | 16 |
| 2 .2.5.3 Déformation du globule rouge drépanocytaire                  | 16 |
| 2.2.6 Complications   | 17 |
| 2.2 .7 Diagnostic   | 17 |
| 2 .2.8 Traitement   | 17 |
| 2.2.9 Traitement visant la circulation et la microcirculation         | 18 |
| 2.3. Génétique et biologie moléculaire                                | 18 |
| 2.3.1 Transmission  | 18 |
| 2.3.2 Détection de la drépanocytose par analyse génétique             | 20 |
| 2.3.2.1 Principe de la détection                                      | 20 |
| 2.3.2.2 Analyse génétique   | 20 |
| 2.3.2.3 Le conseil génétique et le diagnostic prénatal                | 21 |
| <b>Partie II : partie pratique</b>                                    |    |
| <b>Matériel et méthodes</b>   |    |
| 1. Matériel .....   | 24 |
| 1.1 .Type et population d'étude                                       | 24 |
| 1.2 Présentation de la région d'étude                                 | 24 |
| 1.3 Durée d'étude   | 24 |
| 1.4 Supports utilisés dans l'enquête statistique                      | 24 |
| 2 Méthodologie de l'enquête   | 25 |
| 2. 1 prélèvement sanguin  | 25 |
| 2.2 Hémogramme  | 25 |
| <b>Résultats</b>  |    |
| 3.1 Caractéristiques de la population étudiée                         | 27 |
| 3.1.1 Répartition de la population selon le type d'hémoglobinopathies | 27 |
| 3.1.2 Répartition de la population selon l'âge                        | 27 |
| 3.1.3 Répartition des patients selon l'âge au diagnostic              | 28 |

|   |           |
|---|-----------|
| 3.1.4 Répartition des patients selon le sexe        | 29        |
| 3.1.5 Répartition des patients selon la région      | 30        |
| 3.2 Données cliniques                               | 31        |
| 3.2.1 Fréquence de consanguinité                    | 31        |
| 3.3. Etude hématologique                            | 31        |
| 3.4. Complication chronique liée à la drépanocytose | 34        |
| 3.5. Traitement                                     | 36        |
| <b>Discussion</b>                                   |           |
| 4. Profil épidémiologique                           | 38        |
| 4.1. Fréquence                                      | 38        |
| 4.2 .Effet de l'âge                                 | 39        |
| 4.3. Effet de l'âge au diagnostique                 | 39        |
| 4.4. Effet de Sexe                                  | 40        |
| 4.5. Effet de Région                                | 41        |
| 4.6. Effet de Les antécédents familiaux             | 41        |
| 4.7. Effet de La consanguinité                      | 41        |
| 5. Paramètres hématologiques                        | 41        |
| 6. Complication                                     | 43        |
| 7. Traitement                                       | 44        |
| <b>Conclusion et perspectives</b>                   | <b>48</b> |
| <b>Référence bibliographique</b>                    |           |
| <b>Les annexes</b>                                  |           |

## **RESUME**

La drépanocytose est une maladie génétique de l'hémoglobine, une substance contenue dans les globules rouges, qui sert à transporter l'oxygène à travers le corps. Il est particulièrement fréquent dans les populations d'origine antillaise, africaine et méditerranéenne.

L'objectif de notre étude est de déterminer le profil épidémiologique et hématologique de la drépanocytose dans les régions de l'Est Algérien à travers une étude rétrospective sur les dossiers des malades drépanocytaires dans une durée de 3 mois dans les établissements suivants (Hopitalspécialisé de sidi mabrouk à Constantine, ESPH de Bakkaria et ESPH de KaldiAbedl-Azize de Tebessa).

L'étude épidémiologique montrent que la drépanocytose homozygote touche 36.% des malades, alors que 15 % des malades atteint d'une hétérozygote (S/C) et 49 % malades sont drépano-thalassémique. L'âge moyen est de 13 ans avec un sexe- ratio (H/F) de 1,17 et des extrêmes allant de 0,6 à 33 ans. Dans notre échantillon, 25% des patients sont issus de mariages consanguins alors que 60% des complications ont été enregistré chez les malades et 54% des cas nécessitent une transfusionsanguine splénectomie.

L'étude hématologique montre une diminution significative du taux des globules rouges, d'hémoglobine, de l'hématocrite du volume globulaire moyen, du la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine et du concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine chez les sujets malades comparativement aux sujets sains.

On peut conclure que la drépanocytose est une maladie fréquente et grave dans les régions de l'EST Algérien avec un risque des complications parfois mortelles et nécessite une prise en charge de malades depuis la naissance pour réduire la mortalité infanto juvénile.

**Mots Clé :** Drépanocytose, épidémiologique, hémogramme, anémie.

## **ABSTRACT**

Sickle cell disease is a genetic disease of hemoglobin, a substance found in red blood cells, used to transport oxygen through the body. It's particularly common in populations of Caribbean, African and Mediterranean origin. The objective of our study is to determine the epidemiological and hematological profile of sickle cell disease in the eastern Algerian regions through a retrospective study of patient records over a period of 3 months in following institutions (Sidi Mabrouk specialized hospital in Constantine, ESPH in Bakkaria and ESPH in Kaldi-Abedl Azize in Tebessa).

The epidemiological study shows that homozygous sickle cell disease affects 36%, 15% of patients suffering from heterozygote (A / C) and 49% of sick sickle -thalassémique. The average age is 13 years with a sex ratio (m / f) of 1,17 and extremes ranging from 0.6 to 33 years. In our sample 25% of patients from consanguineous marriages while, 60% of complications were recorded and 54% of cases require a blood transfusion splenectomy.

The haematological study showed a significant decrease in red blood cell count. Hemoglobin hematocrit average cell volume mean hemoglobine content and mean hemoglobin concentration in sick subjects compared to healthy subjects it can be concluded that sickle, cell disease is frequent and serious disease in the regions, of the algerian EST with a risk of complications that are sometimes fatal and requires care of patients since birth to reduce infant and child mortality.

**Keywords:** Sickle cell disease. Epidemiological. Hemogram, anemia



## ملخص

مرض فقر الدم المنجلي هو مرض وراثي للهيموغلوبين، وهي مادة موجودة في خلايا الدم الحمراء التي تستخدم لنقل الأكسجين عبر الجسم. وهو شائع بشكل خاص في سكان منطقة البحر الكاريبي والأفريقية والبحر الأبيض المتوسط. الهدف من دراستنا هو تحديد الملف الوبائي والدموي لمرض الخلايا المنجلية في المناطق الشرقية من الجزائر من خلال دراسة بأثر رجعي لملفات المرضى في فترة 3 أشهر في المؤسسات التالية (مستشفى متخصص في سيدي مبروك في قسنطينة، ومستشفى الاستعجالات للنساء والتوليد وطب الاطفال خالد بن عبد العزيز تبسة، ومستشفى بوقرة بولعراس ببيكارية تبسة) على مستوى ارشيف ملفات المرضى.

أظهرت الدراسة الوبائية أن مرض الخلية متمائل الزيغوت يؤثر على 36 ٪ ونقص مرضى الخلايا المنجلية غير المتجانسة في سجلات بحثنا، و 15 ٪ من المرضى الذين يعانون من الزيغوت غير المتمائل و 49 ٪ من تلاسيميا فقر الدم المنجلي متوسط العمر هو 13 سنة مع نسبة الجنس من 1,17، واقصاها تتراوح من 0,6 الى 33 سنة. ولدينا في العينات نسبة 25 من المرضى نتيجة زواج الاقارب، بينما تم تسجيل 60 من المضاعفات لدى المرضى و 54 من الحالات التي تتطلب استئصال الطحال لنقل الدم .

أظهرت دراسة أمراض الدم انخفاضًا كبيرًا في عدد خلايا الدم الحمراء، الهيموغلوبين، ومتوسط حجم الهيماتوكريت في الخلايا، ومتوسط محتوى الهيموغلوبين الحبيبي، وتركيز الهيموغلوبين الحبيبي لدى الاشخاص المرضى مقارنة بالأشخاص الاصحاء.

من خلال دراستنا يمكن ان نستنتج ان مرض فقر الدم المنجلي هو مرض منتشر وخطير في مناطق الشرق الجزائري مع درجة خطورة يمكن ان تكون قاتلة في بعض الاحيان وتتطلب رعاية المرضى منذ الولادة للحد من وفيات الرضع والاطفال .

**الكلمات المفتاحية :** مرض فقر الدم المنجلي، علم الوبائية، جهاز تصوير الدم، فقر الدم.

---

# **Introduction**

---

## INTRODUCTION

Les pesticides, encore appelés produits phytosanitaires sont des substances chimiques qui contribuent de façon nécessaire et souvent indispensable à la sauvegarde de la régularité et à la qualité et de la production agricole. Dès la fin de la seconde guerre mondiale, ces produits furent très employés dans le secteur agricole non seulement pour augmenter le rendement de production mais également pour protéger les plantes tout au long de leur croissance vis-à-vis des organismes nuisibles animaux et végétaux, pouvant causer des dégâts dont les conséquences économiques peuvent parfois être très importantes pour une exploitation agricole, une région ou un pays (ACTA/UIPP, 2002).

Les produits phytosanitaires regroupent plusieurs classes dont les trois principales sont: les fongicides, les herbicides et les insecticides. Contre les virus et les parasites responsables de certaines maladies humaines (paludisme, fièvre jaune, dengue...), le moyen actuel reste de lutter contre les vecteurs de ces maladies soit les insectes (cicadelles, moustiques...). Les insecticides permettent donc de lutter contre les insectes mais aussi contre les pathogènes qu'ils véhiculent. Toutefois, l'utilisation intensive de ce composé a entraîné de graves problèmes environnementaux et des risques pour la santé humaine due à leur hydro-solubilité et leur toxicité élevées (EFSA, 2008 ; Tomlin, 2009).

Les industries chimiques ont développé d'autres familles d'insecticides dont le principe actif est différent, quoiqu'il s'agisse toujours de neurotoxiques. Ces familles sont les carbamates, les **pyréthroïdes**, les nicoténoïdes et les organophosphorés. Beaucoup de molécules proposées successivement dans chacune des familles se sont révélées également toxiques ou capables de produire des effets néfastes soit pour l'environnement, soit pour l'Homme, ce qui a mené de nouveau à la production d'autres variantes. De cette manière, la production de nouveaux insecticides et l'étude de toxicité se sont livrées une course effrénée, dans laquelle les industries ont gardé une bonne avance (Costa *et al.*, 2004; Colborn, 2006).

Par ailleurs, de nombreuses études épidémiologiques suggèrent une corrélation entre l'utilisation professionnelle des pesticides et l'apparition de certaines pathologies dans les populations concernées. Des effets cancérogènes, neurotoxiques des pesticides ont été mis en évidence chez l'animal. La question des risques pour l'homme est donc posée tant au niveau professionnel qu'à celui du consommateur (Oerke and Dehne, 1997).

Le cerveau est une partie vitale de l'organisme fonctionnant comme système de coordination et de régulation des parties du corps. Tout dommage dû à un stress physique, physiologique et chimique

Peut avoir un impact sérieux sur l'organisme entier. Le cerveau est aussi considéré comme très vulnérable au stress oxydatif que d'autres organes du corps car il consomme une grande quantité d'oxygène, contient de grandes quantités d'acides gras polyinsaturés (AGPI) et à de faibles niveaux d'enzymes antioxydants. (Aurélie. G, 2015).

Le stress oxydatif est l'un des principaux mécanismes de toxicité associés à l'envahissement des pesticides de l'environnement. Il est devenu un phénomène d'actualité, en effet, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par ce concept qui est, de nos jours, jugé, comme une situation physiologique impliquée dans la plupart des maladies humaines. Le stress oxydant correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire. Il se définit comme étant le résultat d'un déséquilibre du rapport entre les radicaux libres et les systèmes de défense antioxydants dont dispose la cellule, avec comme conséquence l'apparition des dégâts souvent irréversible pour la cellule (Pincemail *et al.*, 2002).

Plusieurs recherches s'orientent vers les plantes médicinales considérées comme source énorme de multiples substances phytothérapeutiques douées d'activités à la fois antioxydantes et qui peuvent être l'arme permettant de faire face au stress oxydant et ses dégâts au niveau des organes de l'être vivant.

A la lumière de ces données, l'idée de notre travail, dans le cadre de cette étude est de répondre à ces questions:

- Quel est l'effet toxique de deltaméthrine sur le système nerveux chez les souris ?
- Y'a-t-il un effet protecteur de l'extrait de grenadier contre cette toxicité chez les souris?

---

# **ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

---

---

## **CHAPITR I PESTICIDES**

---

# 1 Généralité sur les pesticides :

## 1.1 Définition des pesticides :

Le terme pesticide dérive du mot anglais « Pest » qui désigne tout animal ou plante (virus, bactérie, champignon, ver, mollusque, insecte, rongeur, oiseau et mammifère) susceptibles d'être nuisible pour l'homme et à son environnement et de « cide », du latin caedere signifiant frapper, abattre, tuer (**Gatignol & Etienne, 2010**).

Dans les textes relatifs à la réglementation européenne les pesticides sont aussi appelés « produits phytosanitaires, produits phytopharmaceutiques ou produits antiparasitaires à usage agricole ». Mais sur le plan international, le terme anglais « pesticide » est d'usage courant. **Calvet et al. (2005)** mentionnent que la Directive européenne **91/414/CEE** considère les pesticides comme étant : « les substances actives et les préparations contenant une ou plusieurs substances actives qui sont présentes sous la forme dans laquelle elles sont livrées à l'utilisateur et qui sont destinées à :

- Protéger les végétaux ou les produits végétaux contre tous les organismes nuisibles ou à prévenir leur action ;
- Exercer une action sur les processus vitaux des végétaux, pour autant qu'il ne s'agisse pas de substances nutritives (par exemple, les régulateurs de croissance) ;
- Assurer la conservation des végétaux, pour autant que les substances ou produits ne fassent pas l'objet de dispositions particulières du Conseil ou de la commission concernant les agents conservateurs ;
- Détruire les végétaux indésirables, ou ;
- Détruire des parties de végétaux, freiner ou prévenir une croissance indésirable des végétaux ».

## 1.2. Classification et types des pesticides :

Les pesticides commercialisés actuellement comprennent une multitude de structures chimiques et de groupes fonctionnels, ce qui rend leur classification assez complexe. La plupart des auteurs classent les pesticides selon deux systèmes de classification, soit en fonction de la nature chimique de la substance active qui les composent, soit selon les organismes vivants visés.

**1.2.1 Le premier système de classification** tient compte de la nature chimique de la substance active qui compose majoritairement les produits phytosanitaires. Selon **Calvet et al. (2005)**, Celle-ci est donnée par sa composition élémentaire, sa composition fonctionnelle et par sa structure, c'est-à-dire par l'arrangement dans l'espace des atomes qui constituent la molécule. Cette classification chimique permet ainsi une meilleure

compréhension des propriétés des pesticides et donc de leur devenir dans les milieux naturels. Parmi les principaux groupes chimiques on peut citer :

- A Les organochlorés.
- B Les organophosphorés.
- C Les carbamates.
- D Les pyréthrinoïdes .**

## **2 D.1 Pyrethrinoïdes**

### **2.1 D.1.1. Généralités**

Les Pyréthrinoïdes sont des insecticides utilisés pour lutter contre les parasites des grandes cultures (arachide, betterave, canne à sucre, céréales, pomme de terre, coton, mil) et contre les parasites des arbres fruitiers et les légumes (**Toumi, 2013**).

Les pyréthrines sont connues depuis 2000 ans. En effet, la littérature chinoise mentionne l'utilisation d'insecticides d'origine végétale par les chinois depuis le 1<sup>er</sup> siècle après Jésus Chris (**Testud et Grillet, 2007**).

### **2.2 D.1.2. Classification des pyréthrinoïdes**

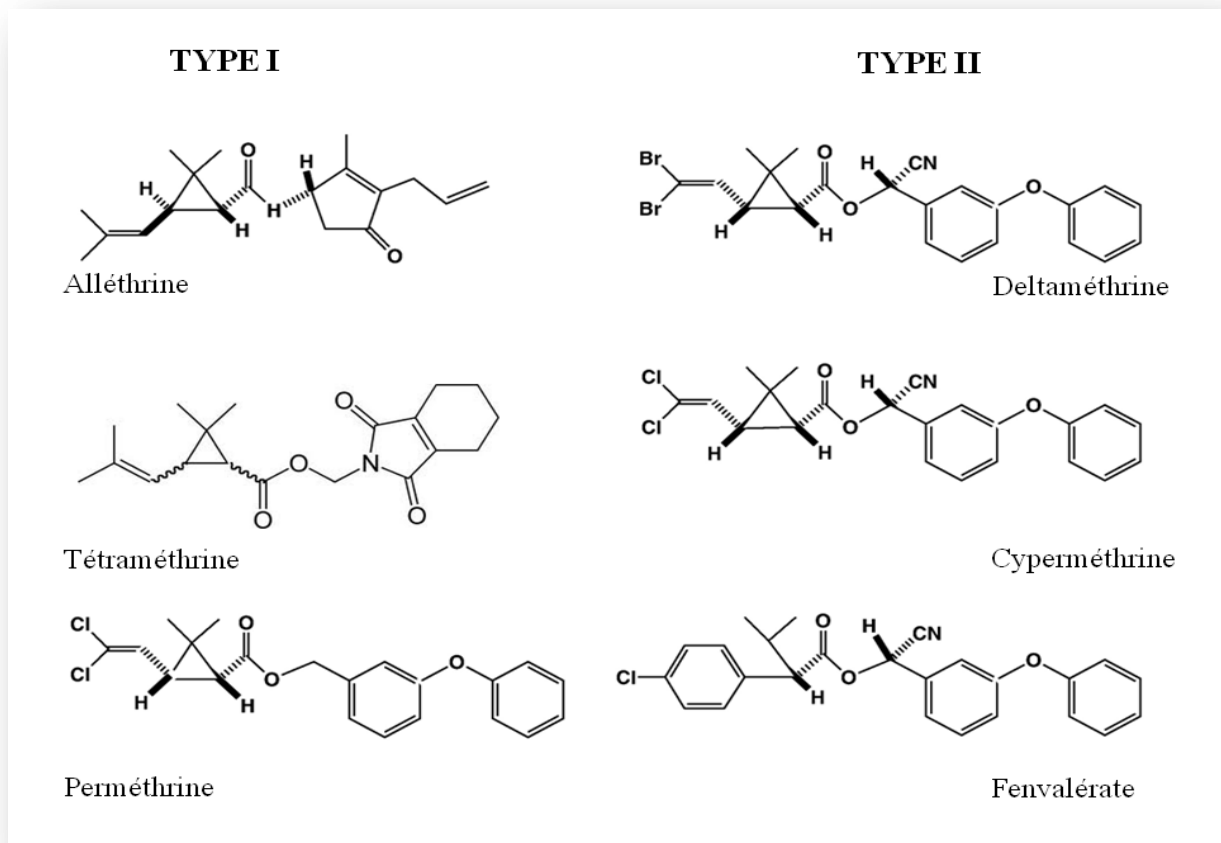
La famille des pyréthrinoïdes renferme deux groupes distincts :

1- Les pyréthrinoïdes naturels (non-synthétiques) sont des insecticides d'origine végétale, extraits du pyrèthre produit par *Chrysanthemum cinerariaefolium*. Cette dernière est une Plante herbacée, vivace, cultivée pour ses fleurs utilisées pour l'extraction d'une poudre Insecticide contenant le pyrèthre, d'où l'appellation pyréthrinoïdes. Ces composés sont instables, se dégradent rapidement et perdent leur pouvoir toxique à la suite d'un contact avec la lumière, l'air ou encore la chaleur.

2- Les pyréthrinoïdes synthétiques, dont fait partie la deltaméthrine, se caractérisent par des propriétés insecticides sur un large spectre d'espèces. Les pyréthrinoïdes sont divisés en deux Groupes :

- ✓ Les composés du type I, dont la molécule ne contient pas le groupement  $\alpha$ -cyané regroupent les composés suivants : alléthrine, bifenthrine, perméthrine, phénothrine, resméthrine, sumithrine, téfluthrine, tétraméthrine ;
- ✓ Les composés du type II, dont la molécule contient le groupement  $\alpha$ -cyané, sont représentés par les composés suivants : cyfluthrine, cyhalothrine, cyperméthrine, **Deltaméthrine**, fenvalérate, fluméthrine, fluvalinate, tralométhrine.

Les composés de type II sont plus toxiques que ceux du type I et ce en fonction de la durée et



de leur mode d'action (Schleier et Peterson, 2012)

**Figure01.** Exemples des insecticides appartenant aux types I et II des pyréthrinoïdes (Pyabalo Aklesso Kadala.2005).



### **2.3 D.1.3. Mécanisme d'action des pyrethrinoïdes :**

Les pyréthrinoïdes sont des molécules lipophiles agissant par contact après avoir pénétré la cuticule des arthropodes. Ces composés se fixent sur des récepteurs proches des canaux sodiques et modifient ainsi leur perméabilité. En prolongeant l'ouverture de ces canaux, la phase de dépolarisation du potentiel d'action est augmentée. Lors d'atteintes de motoneurones périphériques, ce mécanisme se manifeste par une phase d'excitation intense de l'insecte associée à une incoordination motrice. L'effet Knock Down (KD) correspond à une paralysie de l'insecte et ne se produit que lors d'atteinte des ganglions nerveux centraux en premier.

Cette paralysie n'est pas générale car les insectes paralysés conservent une activité respiratoire non négligeable. Après un certain délai, les insectes paralysés peuvent récupérer leurs fonctions motrices. La réversibilité de la paralysie va dépendre de la dose reçue par l'insecte, un effet léthal survenant au-delà d'une certaine dose d'insecticide. Pour les stomoxes qui entrent en contact avec des supports traités, la principale voie de pénétration de l'insecticide correspond aux tarse. Les pièces buccales des stomoxes sont également en contact avec la peau lors du repas sanguin (Nicolas E, 2006) .

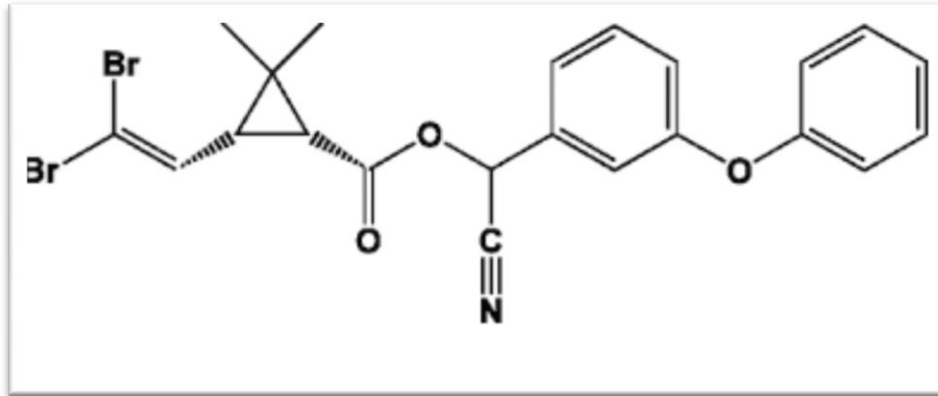
### **2.4 D.1.4. Exemple sur les pyrethrinoïdes : la deltaméthrine**

La deltaméthrine (OMS, 1998) ou K.othrine®, ou décaméthrine, est un insecticide pyréthrinoïde de synthèse de type II très actif et ayant un large spectre d'action. Son utilisation dans le domaine de la santé publique et animale, et surtout en agriculture, semble être largement envisagée (Dejoux, 1983). Est un insecticide non systémique à action rapide par contact et ingestion (Brrsindou, 1983; Tomlin, 1994).

#### **D.1.5 propriétés chimiques :**

Formule chimique: **[1R-[1 $\alpha$ (S\*),3 $\alpha$ ]-cyano(3-phénoxyphényl)méthyl 3-(2,2-dibromoéthényl)- 2,2-diméthylcyclopropanecarboxylate**. La stabilité thermique de la deltaméthrine est bonne. Sous l'effet de rayonnements lumineux (en particulier l'irradiation solaire), la deltaméthrine se dégrade. Les fonctions présentes sur la molécule de deltaméthrine (halogène, double liaison, fonction ester, groupe nitrile) constituent autant de points d'attaque possibles de la structure par des réactifs variés.

La deltaméthrine présente une exceptionnelle stabilité aux acides; elle peut réagir violemment au contact d'agents oxydants forts ;En milieu alcalin, elle est saponifiée; avec la chaux éteinte, cette réaction de saponification peut constituer, si nécessaire, un moyen pratique de destruction de la deltaméthrine.



**Figure 02:** Formule chimique de deltaméthrine (INRS, 2007)

#### D.1.6. utilisation des pesticides : selon (INSR, 2016)

La deltaméthrine intervient comme matière active (famille des pyréthrinoïdes) pour la préparation d'insecticides à usages agricole, vétérinaire et ménager. En France, les cultures traitées à la deltaméthrine sont principalement: les céréales, la vigne, l'arboriculture, les cultures légumières, la pomme de terre.

La deltaméthrine est utilisée pour lutter contre les moustiques adultes : la lutte adulticide qui est la plus largement pratiquée est conduite afin d'interrompre le cycle de développement des vecteurs des grandes endémies.

Les produits commerciaux peuvent se présenter sous les différentes formes suivantes :

- ✚ solutions.
- ✚ concentrés émulsionnables.
- ✚ poudres et poudres mouillables.
- ✚ granulés.
- ✚ suspensions concentrées

### **D.1.7. Toxicité de deltaméthrine:**

Cet insecticide est pratiquement sans danger pour les mammifères avec une DL50 pour le rat par ingestion de 135 à plus de 5 000 mg/kg (**Tomlin, 2000**).

Depuis plus de 20 ans, la deltaméthrine est recommandée pour lutter contre les stades adultes des moustiques.

#### **a)- Toxicité aiguë:**

La toxicité de la deltaméthrine par voie orale dépend du solvant utilisé : elle est en effet plus toxique lorsqu'elle est administrée dans un solvant huileux ou organique que dans un solvant aqueux probablement en raison de sa faible absorption dans ces conditions (**CCHS, 2001;WHO, 1990**).

En solution dans un solvant non aqueux, la deltaméthrine présente sa plus faible DL50 de 19 mg/kg par voie orale chez la souris (**WHO, 1990**) et d'environ 130 mg/kg/j chez le rat, alors qu'elle est de 4000 mg/kg en suspension aqueuse.

La toxicité par voie cutanée est faible ; la DL50 correspondante est supérieure à 800 mg/kg chez le rat et supérieure à 2000 mg/kg chez le lapin.

L'intoxication aiguë se manifeste chez le rat, la souris le et lapin par les signes suivants: hyper salivation, diarrhée, dyspnée, faiblesse, défaut de coordination motrice, hypotonie, tremblements, mouvements choréiformes, tachycardie, difficultés respiratoires et convulsions cloniques. Les paralysies des muscles respiratoires sont susceptibles de conduire à la mort (**INRS., 2007**) .

Après administration intraveineuse de 3 mg/kg chez le chien anesthésié, il a été mis en évidence des effets cardio-vasculaires tels que chute de la tension artérielle, bradycardie sinusale, troubles de la conduction supra ventriculaire, troubles de la repolarisation et troubles de l'excitabilité auriculaire.

Il n'a pas été mis en évidence de façon certaine, d'impact au niveau broncho-pulmonaire, en dehors des effets imputables aux solvants organiques utilisés dans la plu part des préparations.

Des effets irritants cutanés de la deltaméthrine ont pu être rapportés dans certaines études chez le cobaye et le lapin ; ils sont cependant d'intensité modérée et réversibles en

quelques jours. Les résultats de ces tests dépendent fortement de la proportion de solvants organiques et d'émulsifiants dans le produit (WHO, 1990; EC, 2002; EPA, 1998).

Une irritation oculaire légère à modérée est observée chez le lapin, après application locale de la substance dans sa formulation concentrée commerciale. Les effets sont réversibles en 2 à 7 jours (WHO, 1990; EC, 2002; EPA, 1998).

***b)-Toxicité sub chronique, chronique:***

La sévérité des effets est variable selon les espèces et selon les voies d'exposition. L'ingestion de fortes doses peut provoquer des signes cliniques sévères mais les signes dus à l'exposition cutanée sont surtout de type irritatif. L'exposition par voie orale chez différentes espèces animales pendant plusieurs semaines à plusieurs mois met en évidence une diminution de poids des animaux ainsi que des effets toxiques de type hyper salivation, diarrhée, vomissements, tremblements voire mouvements incontrôlés. La DSET (dose sans effet toxique) due aux signes systémiques est de 1 mg/kg/j chez le rat et chez le chien, exposés pendant 13 semaines par voie orale, ou pendant 24 mois chez la souris (CCHS,2001; WHO,1990).

**1.2.2 deuxième système de classification :**

repose sur le type de parasites à contrôler. Il existe principalement trois grandes catégories de pesticides selon la nature des cibles visées : les herbicides, les fongicides et les insecticides.

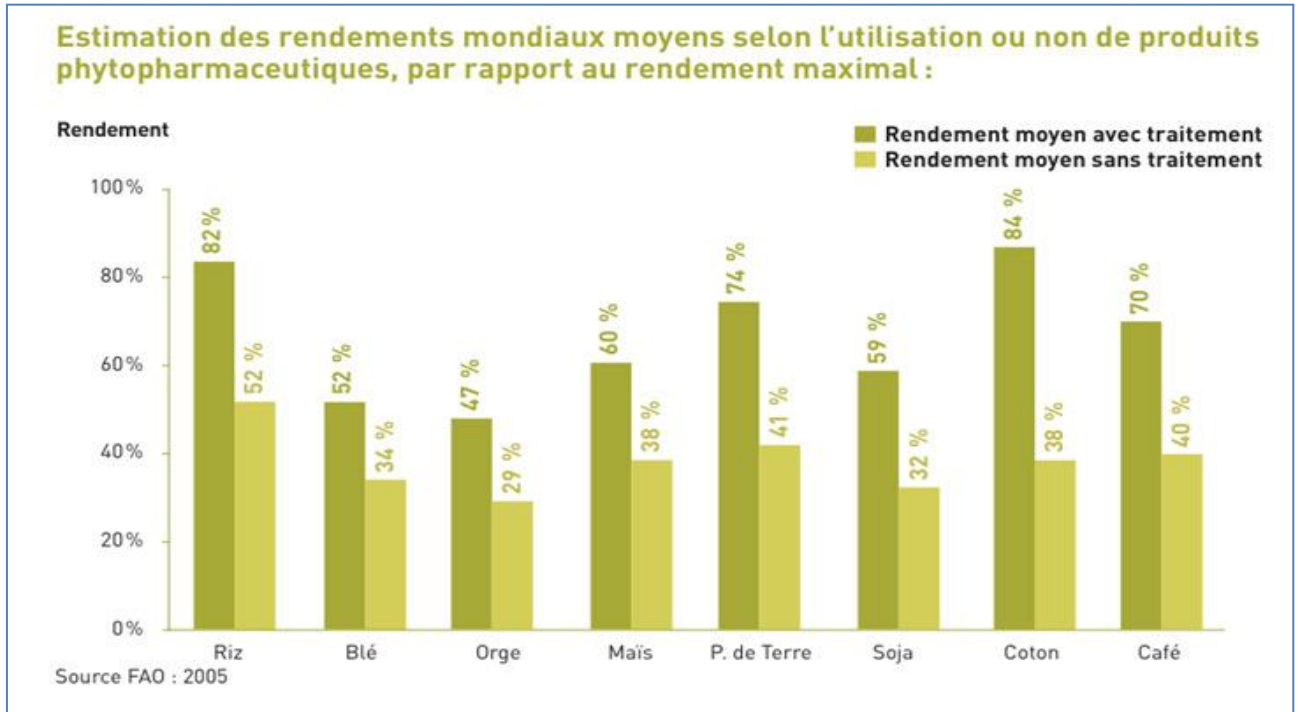
- **Les herbicides :** représentent les pesticides les plus utilisés dans le monde, toutes cultures confondues. Ils sont destinés à éliminer les végétaux entrant en concurrence avec les plantes à protéger en ralentissant leur croissance. Au cours des dernières années, les herbicides ont largement remplacé les méthodes mécaniques pour le contrôle des adventices. Leur utilisation a permis de réduire l'augmentation des coûts et de diminuer l'intensité des labours. Suivant leur mode d'action, leur dose et leur période d'utilisation, ces composés peuvent être sélectifs ou non sélectifs en possédant différents modes d'actions sur les plantes, ils peuvent être :
  - Perturbateurs de la régulation de l'auxine AIA (principale hormone agissant sur

- l'augmentation de la taille des cellules (2,4-D, les acides pyridines,...) ;
- Perturbateurs de la photosynthèse (les triazines, les urées substituées,...) ;
- Inhibiteurs de la division cellulaire (les carbamates, les dinitroanilines,...) ;
  
- **Les fongicides** : permettent quant à eux de combattre la prolifération des maladies des plantes provoquées par des champignons ou encore des bactéries. Ils peuvent agir différemment sur les plantes comme étant :
  - Des fongicides affectant les processus respiratoires (dithiocarbamates, cuivre, soufre,...) ;
  - Des inhibiteurs de la division cellulaire (benzimidazoles,...) ;
  - Fongicides affectant la biosynthèse des acides aminés ou des protéines (les anilinopyrimidines) ;
  
- **Les insecticides** forment le groupe de pesticides qui représente le plus de risques pour l'homme, (Mortensen, 1986, in El-Bakouri, 2006). Ils sont utilisés pour la protection des plantes contre les insectes. Ils interviennent en les éliminant ou en empêchant leur reproduction. Différents types existent :
  - Insecticides agissant sur le système nerveux (avermectines, organophosphorés,...)
  - Insecticides agissant sur la respiration cellulaire (phénoxyprazoles, roténone,...) ;

**1.3 Les avantages de l'utilisation des pesticides** : Selon les publications de l'UIPP (2010), les produits phytopharmaceutiques (ou pesticides) figurent parmi les solutions techniques employées dans l'agriculture, pour protéger les cultures vis-à-vis des bio agresseurs (ravageurs, maladies, adventices,...) pouvant causer des dégâts et des pertes de rendements importants. Ils constituent de ce fait, un outil incontournable pour assurer les besoins alimentaires d'une population mondiale de plus en plus croissante. On estime les pertes mondiales dues aux ennemis des cultures (insectes, nématodes, maladies et adventices) à 300 milliards \$ US par année, soit, entre 30 et 40 % de son potentiel de production en nourriture humaine, animale et en fibres (Thomas, 1999, in Fleury, 2003).

La FAO (Organisation Mondiale pour l'Alimentation et l'Agriculture) a réalisé des estimations de l'impact de l'absence de traitements phytopharmaceutiques sur différentes productions

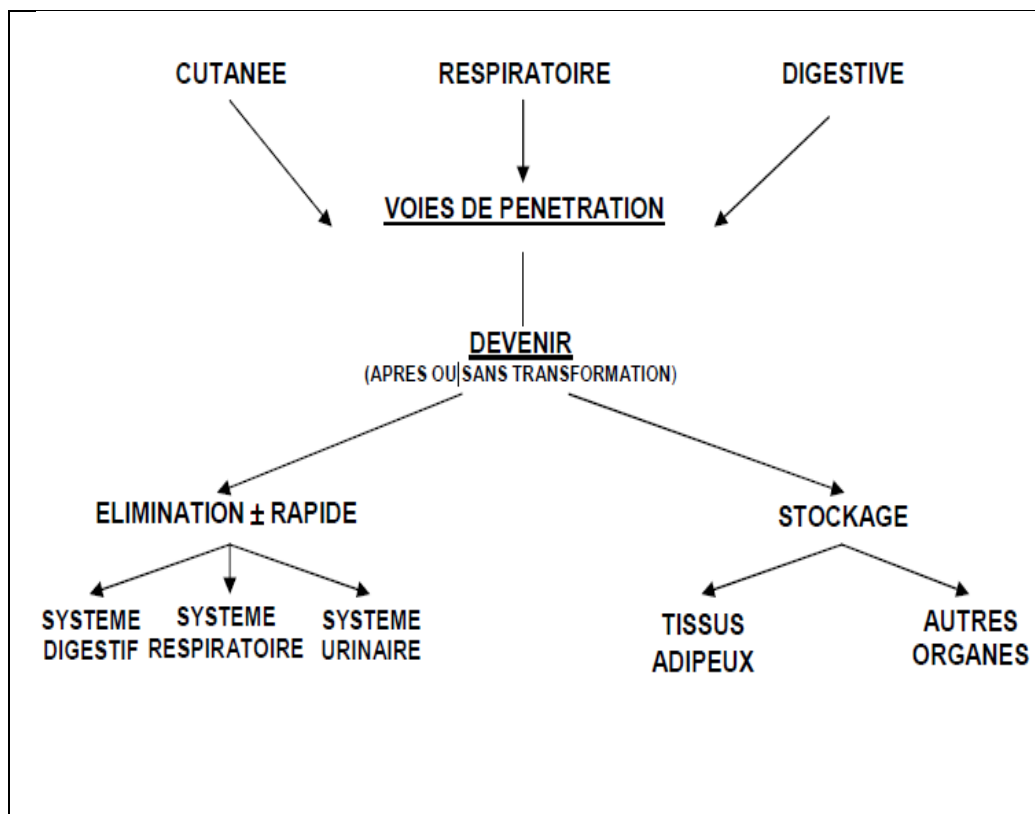
(UIPP, 2011). La figure3 représente les rendements mondiaux moyens calculés par la FAO avec ou sans produits phytopharmaceutiques.



**Figure 3 :** Estimation des rendements mondiaux moyens selon l'utilisation ou non de Produits phytopharmaceutiques par rapport au rendement maximal (UIPP, 2011).

#### 1.4. Devenir des pesticides dans l'organisme :

Tous les pesticides, suivent le même cheminement dès qu'ils ont pénétré l'organisme, et ce sont les mêmes phénomènes physico-chimiques, biochimiques ou biologiques qui vont présider à leur devenir.



**Figure 04 :** Schématisation des modes de pénétration et du devenir des pesticides dans l'organisme(Thomas,1999).

## 1.5. Mode d'action des pesticides :

### 1.5.1 : Action sur le système nerveux :

C'est le mécanisme d'action majoritaire des insecticides, et plusieurs types de mécanismes peuvent être invoqués.

#### 1.5.1.1 : Action sur les synapses et les neurotransmetteurs :

Ces produits perturbent la transmission du message nerveux au niveau des synapses qui sont des relais entre deux cellules nerveuses ou entre une cellule nerveuse et une cellule musculaire (plaque motrice) et qui nécessitent le plus souvent, pour fonctionner, l'intervention d'une substance chimique (neurotransmetteur) fabriquée par le neurone pré-synaptique et qui se fixera sur un récepteur post-synaptique transmettant ainsi le signal ; ce neurotransmetteur sera ensuite dégradé par un mécanisme enzymatique. Les substances intervenant à ce niveau

ont plusieurs possibilités d'intervention, soit sur la synthèse et la libération du neurotransmetteur, soit sur le récepteur, soit sur l'enzyme de dégradation. C'est ainsi que les avermectines bloquent les récepteurs du glutamate du système nerveux central et que les phénylpyrazoles perturbent la transmission au niveau des synapses dotées de récepteurs à l'acide gamma-amino-butyrique (synapses GABA-ergiques).

#### 1.5.1.2 : Action sur la transmission axonale :

La transmission du signal nerveux le long de l'axone d'un neurone se fait grâce à des mouvements d'ions sodium/potassium ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ) au travers d'une protéine canal (ionopore) membranaire. Les pyrèthres et les pyrèthrinoïdes ont une affinité particulière pour ce type de protéines et perturbent les échanges ioniques et donc le signal nerveux qui n'est plus ou mal transmis.

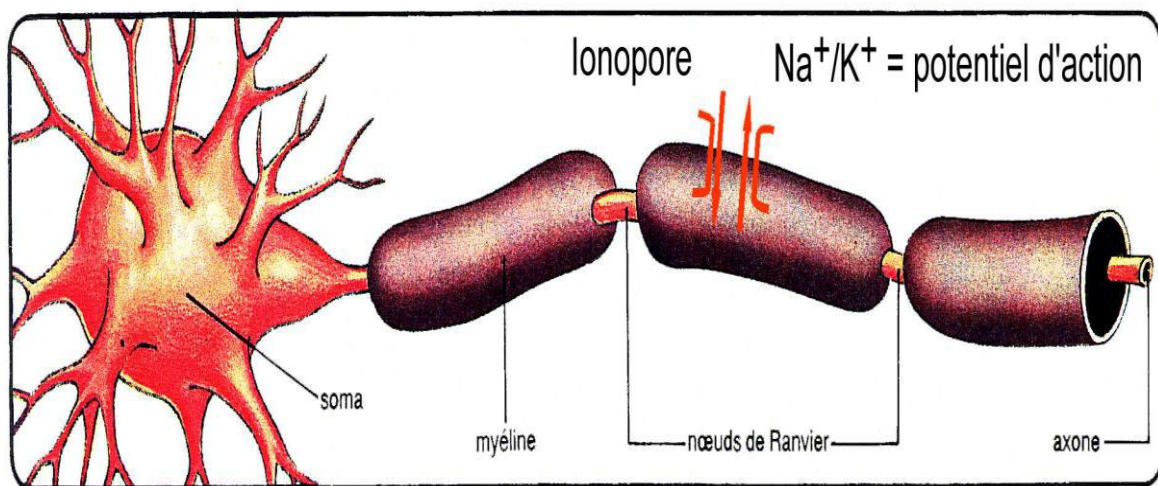


FIGURE 05 : Action sur la transmission axonale

Quel que soit leur mécanisme d'action intime maintenant bien connu jusqu'au niveau moléculaire – ces substances interrompent la transmission du signal, c'est à dire la communication cellulaire afin d'empêcher la cellule effectrice de fonctionner.

#### 1.6. Toxicité des pesticides :

On distingue deux types d'intoxication selon le mode d'exposition : les intoxications aiguës et chroniques.



### **1.6 .1. La toxicité aiguë :**

Les effets aigus (ou à court terme) se traduisent généralement avec apparition immédiate de symptômes peu de temps après le traitement. Les intoxications aiguës surviennent lorsque le sujet est exposé à des quantités importantes du pesticide. Selon la voie de pénétration et la dose du produit appliqué, différents symptômes peuvent se manifester : des signes généraux (fatigue, fièvre,...), des signes cutanés (rougeurs, brûlure), des signes oculaire (démangeaison, rougeur oculaire, troubles visuels,...), des signes neurologiques (céphalées, vertiges, tremblement, convulsions généralisées, perte de connaissance,...), des signes digestifs (nausées, vomissement, diarrhées, douleurs abdominales,...) et des signes respiratoires (toux, gêne respiratoire, douleurs thoraciques,...). (Hileman, 1994 ; Conso et *al.*, 2002).

### **1 .6. 2 toxicités chroniques :**

Les effets chroniques (ou à long terme) se développent avec apparition d'une pathologie après de expositions répétées dans le temps, pour des doses de produit le plus souvent faibles, qui sont susceptibles de s'accumuler dans l'organisme ou d'entraîner des phénomènes irritatifs au niveau de différents organes. La toxicité chronique peut être aussi le résultat d'intoxications aiguës répétées.

malgré quelques réserves sont des maladies neurologiques, des troubles de fertilité, des malformations, des effets sur le système immunitaire, la perturbation du système endocrinien et surtout des maladies cancéreuses (Hileman, 1994 ; Conso et *al.*, 2002).

---

# **CHAPITR II**

# **NEUROTOXICITE**

---

## **1. Généralités sur le système nerveux des mammifères :**

Le système nerveux se divise en deux grandes parties entretenant d'étroites relations entre elles. Les centres supérieurs qui commandent l'ensemble du système nerveux sont regroupés en une masse axiale logée dans les cavités osseuses du crâne et du rachis. Ils forment le système nerveux central, qui se compose donc de l'encéphale, volumineux, et de la moelle épinière. Le système nerveux central est enveloppé par les méninges crâniennes et rachidiennes qui délimitent un espace rempli par le liquide céphalo-rachidien. Ce système nerveux central délègue de nombreux prolongements, les nerfs crâniens ou rachidiens, se distribuant dans tout l'organisme et qui constituent le système nerveux périphérique (Collin B, 2003 ; Dyce K.M et al, 1969).

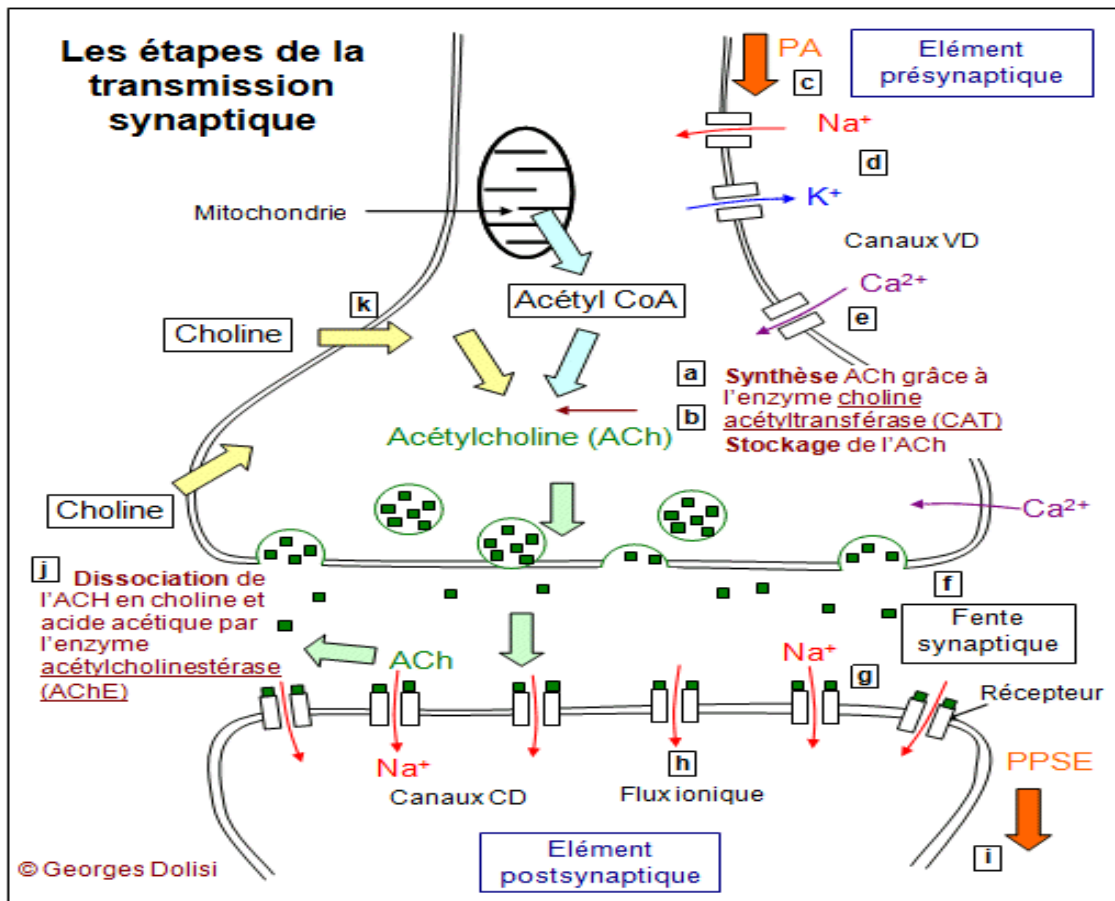
### **1.2. Anatomie du cerveau :**

Le cerveau est la partie la plus proéminente de l'encéphale est constitué de deux hémisphères, reliés uniquement par leur partie centrale, le corps calleux, constitué de substance blanche composée de faisceaux de fibres nerveuses. Chaque hémisphère est constitué de plusieurs lobes, eux-mêmes subdivisés en différentes aires ayant chacune un rôle spécifique. Le cerveau est constitué d'une couche externe, le cortex, substance grise composée des corps cellulaires des neurones, et qui entoure la substance blanche (Aurélié. G, 2015).

## **2 .Les neurotransmetteurs :**

La transmission chimique de l'information nerveuse au niveau de la synapse impose un délai de transmission de 0,5 ms, alors qu'il ne serait que de 1,10 à 6 s dans le cas d'une transmission purement électrique. Mais la nature chimique de ce mode de transmission permet d'agir sur la propagation de l'influx nerveux (Verkhatsky et Butt, 2007).

Les neurotransmetteurs sont des substances chimiques libérées par un neurone au niveau d'une synapse qui modifie de manière spécifique l'activité d'une autre cellule. Ils diffusent vers la région post-synaptique pour activer leurs récepteurs puis sont rapidement éliminés (Guénard, 2001) soit par diffusion en dehors de la fente synaptique, soit dégradés par une enzyme spécifique et réabsorbés par le bouton terminal (Guéguen et al., 2005).



**Figure06.** Mécanisme du transmission synaptique de l'influx nerveux (Chuiko et al., 1997).

**Acétylcholine (ACh) :**

Une fois arrivé à la terminaison nerveuse, l'influx moteur provoque l'ouverture des canaux calciques, ce qui déclenche une entrée massive des ions de calcium à l'intérieur de la cellule. Le Ca<sup>2+</sup> favorise la sécrétion d'Ach dans la fente synaptique (Guénard, 2001 ; Kolb et al., 2002). Chaque deux molécules d'Ach diffusent de l'autre côté et liées avec un récepteur cholinergique (Lodish, et al., 2005 ; Martin et al., 2006), ce dernière provoque l'ouverture d'un canal sodique, ce qui favorise l'entrée des ions du sodium à l'intérieur de la fibre musculaire, dépolarisant ainsi la membrane post-synaptique et créant un potentiel de plaque (Lodish, et al., 2005). En fonction du nombre des récepteurs activés, ce potentiel peut dépasser une valeur seuil et déclencher ainsi un potentiel d'action musculaire qui va diffuser vers l'ensemble de la membrane musculaire et provoquer une contraction de la fibre musculaire. Les molécules d'Ach sont rapidement détruites par l'enzyme AchE présente au niveau de la fente synaptique a deux molécule ; acétate et choline (Martin et al., 2006).

**Adrénaline (Ad) :**

L'adrénaline joue un rôle important dans régulation au niveau de l'ensemble des organes et la réaction de l'organisme face au stress, en cas de situations critique ou nocive (danger, traumatisme, infection, refroidissement). La libération de ce neuromédiateur implique alors toute une série de réactions nerveuses involontaires, comme l'accélération des rythmes cardiaque et respiratoire pour préparer le corps à l'effort de la lutte ou de la fuite (**Martin et al., 2006 ; Verkhatsky et Butt, 2007**).

#### **Dopamine (Da) :**

La dopamine est un neurotransmetteur synthétisé par certaines cellules nerveuses à partir de la tyrosine (Bear et al., 2016). Elle est le neuromédiateur inhibiteur d'un petit groupe de neurones qui affecte le mouvement musculaire, la croissance des tissus, le fonctionnement du système immunitaire. Elle intervient dans la sécrétion de l'hormone de croissance (**Kazushige et al., 2000 ; Meiser et al., 2013 ; Dias et al., 2014**).

#### **GABA :**

Le GABA ou acide g-aminobutyrique est un neurotransmetteur inhibiteur, dont le récepteur se lie aussi au valium. Le GABA et le valium aident à soulager l'anxiété et diminuent l'angoisse. Il est le principal neurotransmetteur inhibiteur et il joue un rôle critique dans la régulation de l'activité neuronale (hyperpolarisation membranaire) chez les vertébrés et les invertébrés. (**Buckingham et al., 2005 ; Verkhatsky et Butt, 2007**).

#### **Sérotonine (5-HT) :**

La sérotonine ou 5-hydroxytryptamine (5-HT) est un neurotransmetteur inhibiteur interviendrait dans des phénomènes tels que le sommeil, la conscience et les états émotionnels (Wang et al., 2007). Le système sérotoninergique implique la 5-HT qui est considérée comme le neurotransmetteur le plus important impliqué dans l'anxiété. Il a été démontré qu'un anxiolytique agissant via le système sérotoninergique cérébral diminue le taux de la 5-HT dans le cerveau (**Hoyer et al., 2002 ; Caramaschi et al., 2007; Meneses et al., 2007**).

## **Morphine :**

Les morphines naturelles du corps humain sont des neuropeptides appelés endorphines et enképhalines (Martin et al., 2006). Les enképhalines sont des inhibiteurs et compétiteurs que l'on retrouve dans les synapses traitant les influx de l'humeur, de l'émotion et de la douleur : en se fixant sur les récepteurs postsynaptiques à la place des neurotransmetteurs effecteurs, elles bloquent la propagation des influx nerveux (Guéguen et al., 2005 ; Nieuwenhuys et al., 2008).

## **3 .Généralités sur la neurotoxicite :**

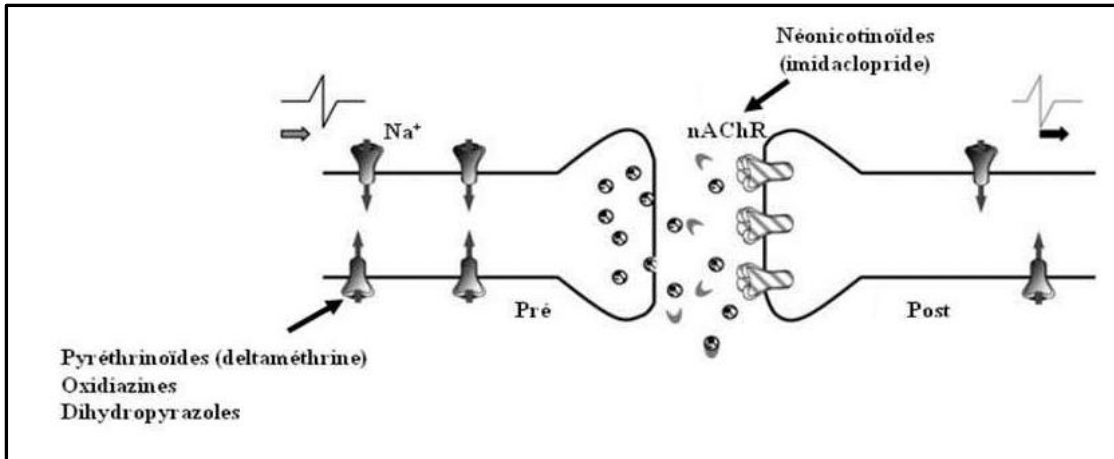
La neurotoxicité est un changement structural ou une altération fonctionnelle du système nerveux, qui trouve son origine dans l'exposition des agents biologique, physique ou chimique (Philbert et al., 2000 ; Bear et al., 2016).

### **3.1. Neurotoxicité des pesticides :**

Les pesticides sont des substances toxiques pour les insectes, les animaux, y compris l'homme (Lauvverys et al., 2007). Ils interfèrent principalement les canaux ioniques et les neurotransmetteurs, ainsi que l'AchE (Costa, 2006 ; Kanthasamy et al., 2012).

### **3.2. Neurotoxicité de la deltaméthrine :**

L'exposition au deltaméthrine (DM) même à de faibles doses induit l'augmentation des radicaux libres au niveau du réticulum endoplasmique (RE) donnant un stress oxydatif pro apoptotique chez les neurones via l'augmentation des produits de la peroxydation lipidique et la diminution de l'activité des enzymes anti oxydantes (**Chin-Chan et al., 2015 ; Hossaine et al., 2015 ; Li et al., 2016**). La principale cible de la deltaméthrine (DM) est les canaux sodiques, elle se fixe sur ces canaux et prolonge la durée d'ouverture de ces derniers en réponses à une stimulation électrique (Raymond-Delpech et coll, 2005). En conséquence, l'influx continue de Na<sup>+</sup> favorise une dépolarisation prolongée de la membrane plasmique et augmente la concentration intracellulaire du Ca<sup>+</sup> ce qui induit l'activation des protéines Chops simultanément, suivie par une cascades d'activation des caspases 12, 9 et 3 respectivement ce qui provoque la fragmentation d'ADN (He et al., 2012 ; Khalatbarry et al., 2015). En plus, la DM peu bloqué les récepteurs de neurotransmetteur GABA (antagoniste non compétitif) dans les neurocytes (Pellerin et al., 1994). L'inhibition de ces récepteurs provoque une hyperexcitabilité neuronale et notamment une entrée massive de Ca<sup>+2</sup> au niveau des récepteurs glutamatergique (Grojean et al., 2001).



**Figure 07.** Les cibles principales des pesticides (Pyabalo.A.K, 2015).

---

# CHAPITRE III

## STRESS OXYDANT

---

## **I. Stress oxydant et antioxydants**

### **I. 1. Stress oxydant**

Élément indispensable à notre survie, à notre vie, à notre développement, à notre capacité d'adaptation ; l'oxygène est également à l'origine de toxicité, d'acidité, d'altération, de dégénérescence. En effet, le métabolisme de l'oxygène, lorsqu'il est dérégulé, peut entraîner de part ce que l'on appelle « le stress oxydant » (**Koechlin-Ramonatox, 2006**).

Il peut former des espèces partiellement réduites et fortement toxiques appelées les radicaux libres ou encore les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN). Radicalaires ou non radicalaires, elles sont produites en permanence par plusieurs types cellulaires dans les organismes aérobies (**Swain et al., 2002; Baudin, 2006**).

Le stress oxydant représente l'incapacité pour l'organisme à se défendre contre l'agression des ERO, en raison de l'existence d'un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défense des antioxydants (**Koechlin-Ramonatox, 2006**).

### **I.2. Radicaux libres :**

Un radical libre est une espèce chimique, un atome ou une molécule contenant un ou plusieurs électrons non appariés (**Li et al., 2016 ; Dasgupta et Klein, 2014**), ils peuvent être chargés ou non chargés (**Kerher et Klotz, 2015**). Les radicaux libres peuvent être générés à partir de nombreux éléments, mais dans les systèmes biologiques, ce sont ceux impliquant l'oxygène et l'azote qui sont les plus importants (**Burton et Jauniaux, 2011**) ; soit par scission homolytique d'une liaison covalente pendant laquelle chaque atome conserve son électron, soit par scission hétérolytique où un atome reçoit deux électrons lorsque les liaisons covalentes sont brisées. Et également, au cours d'une réaction redox avec perte ou gain d'un électron à partir d'un composé non radical (**Dasgupta et Klein, 2014 ; Halliwell et Gutteridge, 2015**).

Ce déséquilibre n'est que transitoire et est comblé par l'acceptation d'un autre électron ou par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule. Les radicaux libres oxygénés ou, plus généralement, les espèces réactives de l'oxygène (ERO), ainsi que les espèces réactives de l'azote (ERN), sont des produits du métabolisme cellulaire normal (**Valko et al., 2007**).

### **I.3. Espèces réactives de l'oxygène (Reactive oxygen species ROS)**

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont produites à partir d'oxygène moléculaire comme résultat du métabolisme cellulaire normal (**Ozougwu, 2016**). Cette appellation inclut les radicaux

libres de l'oxygène (radical superoxyde, radical hydroxyle, monoxyde d'azote ...etc) mais aussi certains dérivés réactifs non radicalaires (Tableau 01).

**Tableau 01** : Les principales espèces réactives de l'oxygène générées dans les systèmes biologiques (Nimse et Pal, 2015 ; Dutta, 2016 ; Ozougwu, 2016)

| Nom | Symbole |
|-----|---------|
|-----|---------|

**Espèces radicalaires**

|                                  |                   |
|----------------------------------|-------------------|
| Anion superoxyde                 | $O_2^{\bullet -}$ |
| Radical hydroxyle                | $HO^{\bullet}$    |
| Radical peroxyde                 | $ROO^{\bullet}$   |
| Radical alcoxyde                 | $RO^{\bullet}$    |
| Monoxyde d'azote                 | $NO^{\bullet}$    |
| Radical tétrachlorure de carbone | $CCl_3$           |

**Espèces non radicalaires**

|                      |                  |
|----------------------|------------------|
| Peroxyde d'hydrogène | $H_2O_2$         |
| Acide hypochlorique  | $HOCl$           |
| Oxygène singulier    | $^1O_2$          |
| Peroxynitrite        | $ONOO^{\bullet}$ |
| Ozone                | $O_3$            |



## I.4. Production des radicaux libres :

L'accumulation intracellulaire d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote (RNS) peut être déclenchée par des facteurs exogènes et / ou endogènes (Silva et Coutinho, 2010), comme résumé dans la figure 2.

### I.4.1 .Production intracellulaire (endogène)

La production des ERO dans les cellules mammifères découle de plusieurs sources possibles mais essentiellement d'origine enzymatique.

### I.4.2. Production extracellulaire (exogène)

L'environnement et le mode de vie sont également responsables de la création et de l'accumulation de radicaux libres dans l'organisme.

Ces facteurs environnementaux incluant des agents cancérigènes non génotoxiques peuvent directement, ou indirectement, être impliqués dans la génération de radicaux libres (xénobiotiques, activation des leucocytes...). Les rayonnements UV induisent la synthèse de l'intermédiaire d'agents photo sensibilisants.

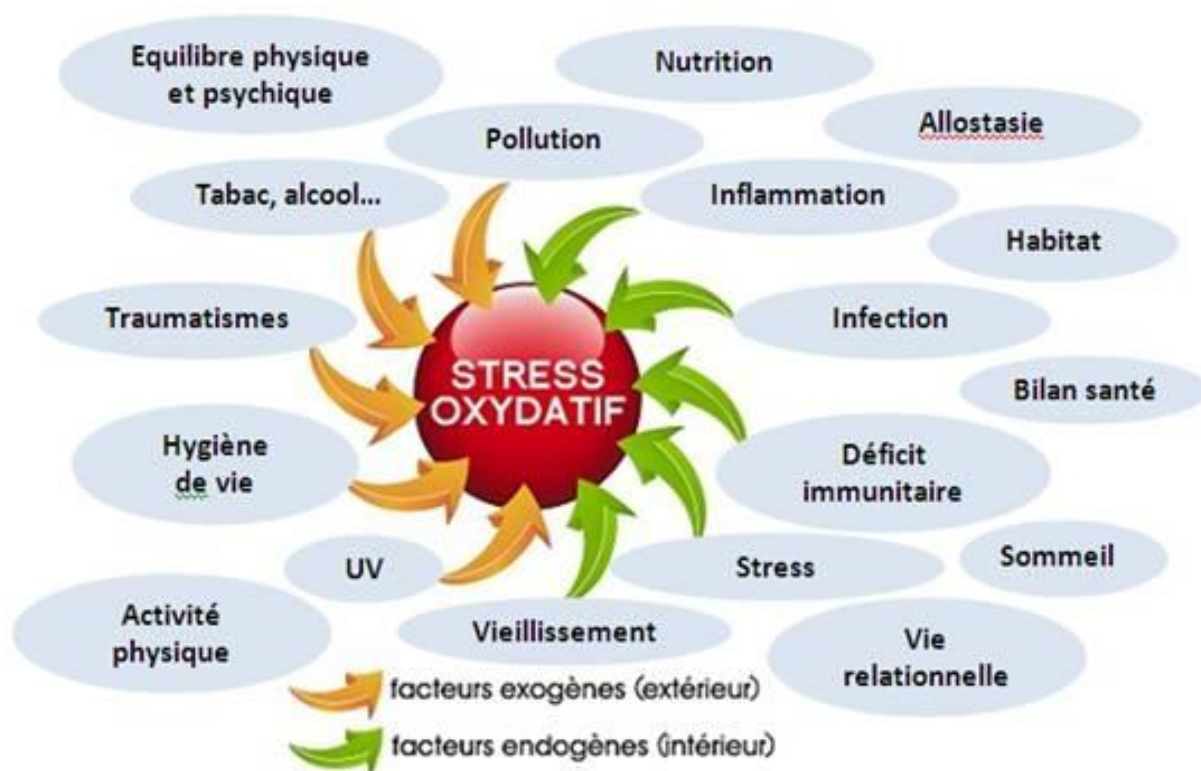


Figure 08: Résumé des sources exogènes et endogènes de radicaux libres.

### **I .5. Stressoxydant et conséquences biologiques :**

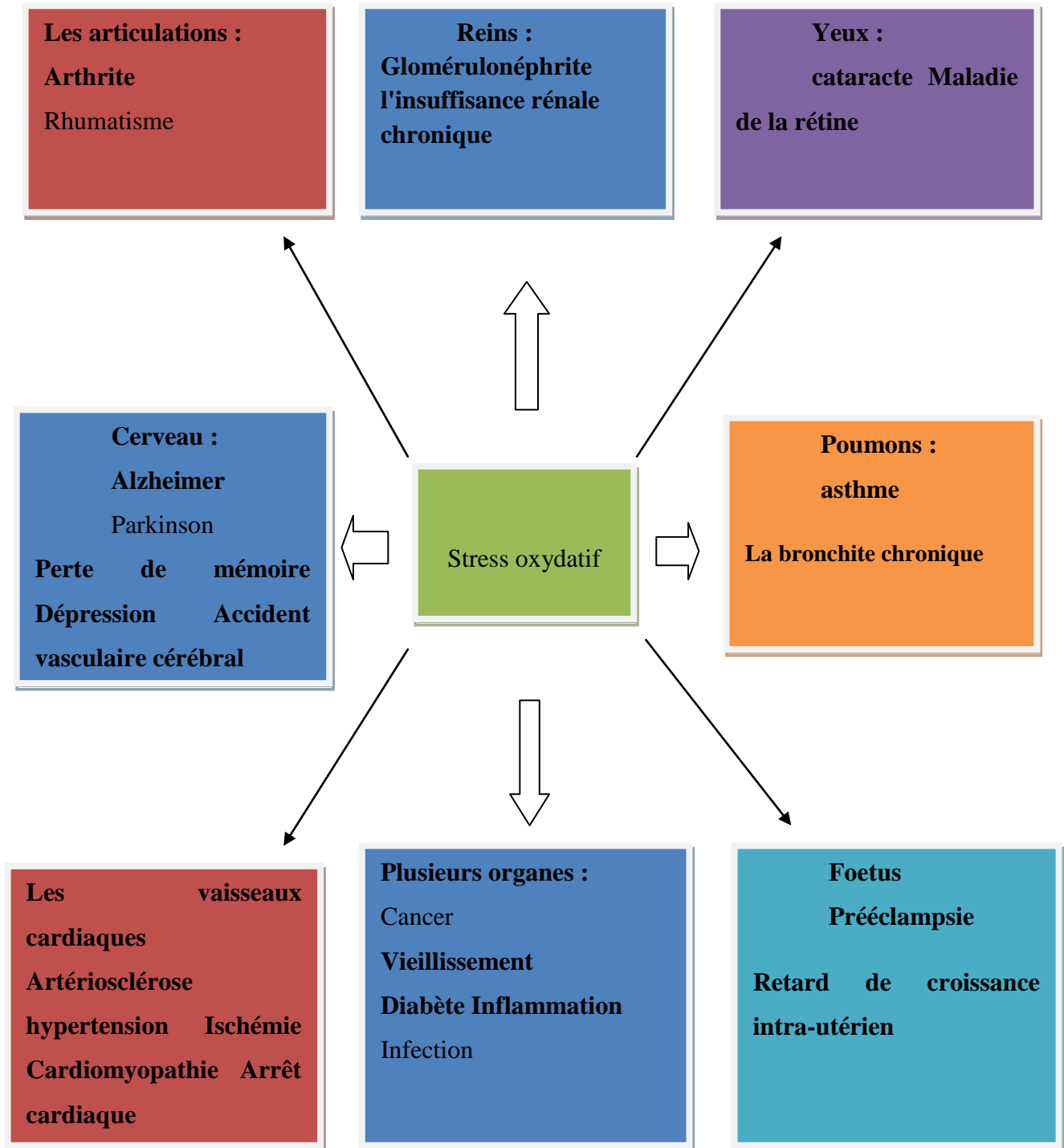
Le stress oxydatif a été impliqué dans plusieurs maladies incluant le cancer, l'athérosclérose, le paludisme, le syndrome de la fatigue chronique, la polyarthrite rhumatoïde et des maladies neurodégénératives telles que la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer et la maladie de Huntington. L'évidence indirecte via la surveillance des biomarqueurs tels que les espèces réactives d'oxygène, et la production d'espèces réactives d'azote, la défense antioxydante indique des dommages oxydatifs qui peuvent être impliqué dans la pathogenèse de ces maladies **(Rahman et al., 2012)**.

Le stress oxydatif contribue également aux lésions tissulaires après irradiation et hyperoxie, ainsi que dans le diabète et est susceptible d'être impliqué dans le développement du cancer lié à l'âge. L'infection par *Helicobacter pylori*, qui augmente la production des espèces réactives d'oxygène et d'azote dans l'estomac humain est également considéré comme important dans le développement du cancer gastrique **(Vasavidevi et al., 2006)**.

Les espèces réactives de l'oxygène ont également été signalés à endommager les composants cellulaires dans le cartilage en altérant les réponses des chondrocytes à des facteurs de croissance et de la migration vers les sites de lésion du cartilage menant à l'arthrose **(Vasavidevi et al., 2006)**. Il existe de plus en plus de preuve suggérant le rôle des ROS de causer des dommages les cellules  $\beta$  des îlots pancréatiques **(Haydent et Tyagi, 2002)**.

Par ailleurs, l'accru des ERO dans le coeur humain est associé à une sténose aortique, alors que l'excès d'ERO dans le rein humain conduit à une lithiase urinaire **(Rahman et al., 2012)**.

Il a également été observé que l'hyperglycémie déclenche la génération de ERO à la fois dans les cellules mésangiales et tubulaires des reins humains, ce qui entraîne des changements structurels et fonctionnels dans les glomérules causant la néphropathie diabétique **(Verzola et al., 2004)**. L'augmentation de la production de ERO en haute altitude peut également être associée au syndrome de mal de montagne aigu (AMS), à l'oedème pulmonaire à haute altitude (HAPE) et à l'œdème cérébral de haute altitude (HACE) **(Rahman et al., 2012)**.



**Figure 09 : conséquences du stress oxydatif (Nagar et al., 2017)**

## **II. Antioxydants**

Les molécules ou microconstituants capables d'interférer avec les radicaux libres sont appelés antioxydants. L'exposition à des radicaux libres à partir d'une variété de sources conduit les organismes à développer une série de mécanismes de défense.

Ces derniers comprennent : (i) des mécanismes de prévention ; (ii) des mécanismes de réparation, (iii) des défenses physiques et (iv) les défenses antioxydantes (Valko et al., 2007).

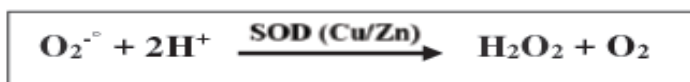
Toutefois, il existe deux types de défenses antioxydantes à savoir, les défenses antioxydantes enzymatiques qui comprennent : superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathion peroxydase (GPx) (Valko et al., 2007), glutathion transférase (Birben et al., 2012), le couple thiorédoxine /thiorédoxine réductase (TRX), hème oxygénase et la peroxyrédoxine (PRX) (Pincemail et al., 2002 ; Halliwell, 2012), qui sont endogène à l'origine (Dasgupta et Klein, 2014).

Tandis que, les antioxydants non enzymatiques sont de petites molécules qui peuvent être soit soluble dans l'eau ou soluble dans les lipides. Certains de ces antioxydants dérivent de l'alimentation tels que les caroténoïdes, les flavonoïdes, les vitamines ; l'acide ascorbique (vitamine C),  $\alpha$ -tocophérol (vitamine E), vitamine A, glutathion (GSH), acide urique, bilirubine et des protéines (ferritine, transferrine, céruloplasmine) qui maintiennent les métaux de transition dans un état inactif pour la formation des ERO (Dasgupta et Klein, 2014).

### **II.1. Défenses enzymatiques :**

#### **II.1.1. Superoxydes dismutases (SOD)**

Les SOD constituent une importante famille de métalloenzymes (Kerher et Klotz, 2015) largement distribuées au sein des organismes aérobies dont elles assurent la survie. Elles catalysent la dismutation du radical superoxyde  $O_2^-$  en dioxygène et en  $H_2O_2$  à une vitesse extrêmement importante (environ  $2.10^9$  L.mol<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup>) selon la réaction suivante :



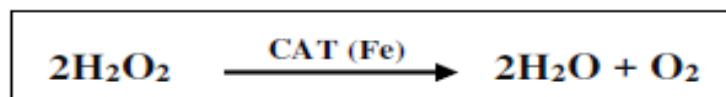
Cette réaction peut se faire spontanément mais de façon moins rapide, ce qui augmente le temps de vie de l'O<sub>2</sub> lui permettant ainsi d'oxyder des composants cellulaires ou de générer des ERO bien plus toxiques tels que le peroxy-nitrite ou le radical hydroxyle. C'est pour cette raison, que cette enzyme a une fonction importante dans le système de défense contre les radicaux libres.

Chez les mammifères, la grande majorité de cette activité se situe au niveau intracellulaire dans les deux compartiments cytosoliques et mitochondriaux (**Kerher et Klotz, 2015**). Ces enzymes comprennent une forme de cuivre-zinc (CuZnSOD, trouvée dans le cytoplasme de la cellule et dans l'espace intermembranaire des mitochondries), une isoenzyme de manganèse (MnSOD, d'origine bactérienne, située dans la matrice mitochondriale) et une forme extracellulaire de la SOD (EC-SOD), une glycoprotéine qui contient également du Cu et du Zn. Ces trois enzymes sont codées par trois gènes nucléaires différents appelés SOD1, SOD2, SOD3 (**Zelko et al., 2002 ; Turrens, 2010**).

### II.1.2. Catalases

La catalase est une enzyme présente dans les cellules des plantes, des animaux et des bactéries aérobies (**Flora, 2009**). Elle est exprimée dans tous les principaux organes du corps en particulier dans le foie, les reins et les érythrocytes où elle joue un rôle essentiel dans la défense des cellules contre le stress oxydatif. Cette protéine est principalement localisée dans un organe cellulaire appelé le peroxysome mais une catalase fonctionnelle a également été détectée dans le cytoplasme, dans les mitochondries des cardiomyocytes de rat et sur la membrane cytoplasmique des cellules cancéreuses humaines (**Nishikawa et al., 2009 ; Glorieux et al., 2015**).

Cette enzyme catabolise le produit final de la réaction de dismutation, à savoir l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, en molécule d'eau et en oxygène moléculaire (**Flora, 2009 ; Rajendran et al., 2014**).

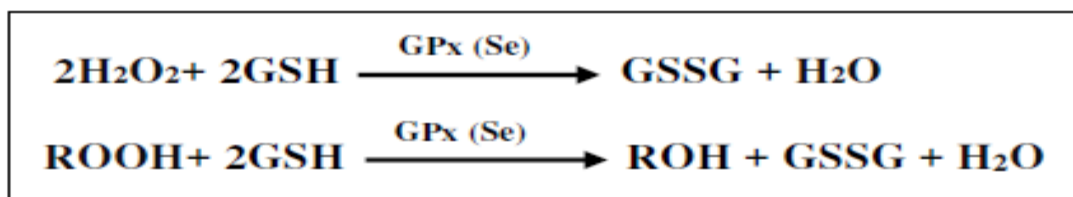


Par ailleurs, lorsque les peroxysomes sont endommagés et la quantité de catalases diminue, une augmentation de la libération de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans le cytosol, peuvent contribuer au stress oxydatif dans la cellule (**Kim et al., 2015**).

### II.1.3. Glutathion peroxydase (GPx)

C'est la deuxième ligne de défense enzymatique, empêche la formation des radicaux libres, chez les mammifères. C'est une enzyme à sélénium présente dans le cytosol et la mitochondrie.

Elle peut réduire d'une part l' $\text{H}_2\text{O}_2$  en  $\text{H}_2\text{O}$  et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcool (ROH) (Favier, 2003 ; Fontaine, 2007).



## II .2 Défenses non enzymatiques

### II.2 .2.Vitamine C

L'acide ascorbique ou vitamine C est un antioxydant hydrosoluble qui joue un rôle essentiellement protecteur (Gallie, 2013). Bien que la plupart des plantes et des mammifères puissent synthétiser de l'ascrobate (Asc) in vivo à partir du glucose, les humains (ainsi que d'autres primates, chauve-souris et cobayes) sont incapables de produire de la vitamine C suite à une mutation du gène codant L-gulono-gamma-lactone oxydase, l'enzyme responsable de catalyser la dernière étape de la voie de biosynthèse de la vitamine C (Lachapelle et Drouin, 2011 ; Telang, 2013).

Il peut être d'origine naturelle (fruits et légumes) ou synthétisé. L'acide ascorbique est un éliminateur de radicaux libres. De plus, il régénère la vitamine E dans les membranes cellulaires en combinaison avec le GSH ou des composés capables de donner des équivalents réducteurs (Nimse et Pal, 2015). C'est un donneur d'électrons, de ce fait, il est appelé antioxydant car, en faisant don de ses électrons, il empêche les autres composés d'être oxydés. Cependant par la nature même de cette réaction, la vitamine C est elle-même oxydée dans le

Processus. La perte d'électron de la vitamine C se produit séquentiellement. L'espèce formée après la perte d'un électron est un radical libre, l'acide semi-déhydroascorbique ou le radical ascorbyle. Par rapport à d'autres radicaux libres, le radical ascorbyle est relativement stable avec une demi-vie de 10<sup>-5</sup> secondes et assez non réactif, lors de la perte d'un second

électron, le composé formé est l'acide deshydroascorbique (**Padayatty et al., 2003 ; Marakala, 2015**).

### **II.2.3. Oligoéléments**

Le cuivre, le zinc, le manganèse, le sélénium et le fer sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant (**Zahran et al., 2017**). Toutes les enzymes antioxydants requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx de sélénium. Cependant, certains oligoéléments, notamment le fer, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme et sous leur forme réduite, peuvent avoir une action pro-oxydante (réaction de Fenton, d'*Haber-Weiss*) (**Garait, 2006**).

### **II.2.4. Antioxydants phénoliques :**

#### **II.2.4.1 Flavonoïdes :**

Les flavonoïdes sont un groupe de dérivés naturels du benzo- $\gamma$ -pyran (**1-7**) qui possèdent de puissantes activités antioxydants. Les flavonoïdes largement distribués dans les fruits et les légumes ont des effets biologiques multiples, comprenant l'activité anti-radicalaire. Il a été rapporté que les flavonoïdes ont un effet protecteur sur les lésions de l'ADN induites par les radicaux hydroxyles. L'un des mécanismes qui explique l'effet protecteur des flavonoïdes sur l'ADN est l'implication des ions métalliques chélatants comme le cuivre ou le fer. Les flavonoïdes complexés avec le cuivre ou le fer empêchent la génération du ROS (**Rice-Evans et al., 1996 ; Pietta, 2000 ; Zhou et al., 2001 ; De Souza et De Giovanni, 2004 ; Nimse et Pal., 2015 ; Kurutas, 2016**).

---

# **CHAPITRE IV**

# **GRENADIER**

---

## 1. Généralités sur le (*Punica granatum L*) :

Depuis ces dernières années, une grande attention est accordée aux bienfaits de la consommation régulière des fruits et légumes sur la santé humaine. Cette valeur nutritive réside dans la grande variété de molécules biologiquement actives (fibres, caroténoïdes, composés phénoliques, vitamines...) (**Tomas-Barberan and Gil, 2008**). La grenade est l'un des produits les plus riches en antioxydants notamment les poly phénols solubles, les tanins et les anthocyanes (Gil et al., 2000). Ces constituants présentent diverses activités biologiques telles que l'élimination des radicaux libres, l'inhibition de la croissance microbienne et la diminution des risques de maladies cardiovasculaires, cérébro-vasculaires et certains cancers (**Hebert, 2006**).

Les extraits du grenadier peuvent être utilisés aussi pour la prévention ou la guérison de l'athérosclérose, des diarrhées, des ulcères gastriques et des maladies liées à l'œstrogène telle que la maladie de Paget du mamelon (**Holland et al., 2009**).



**Figure10** : Arbres du grenadier (**Holland et al., 2009**).

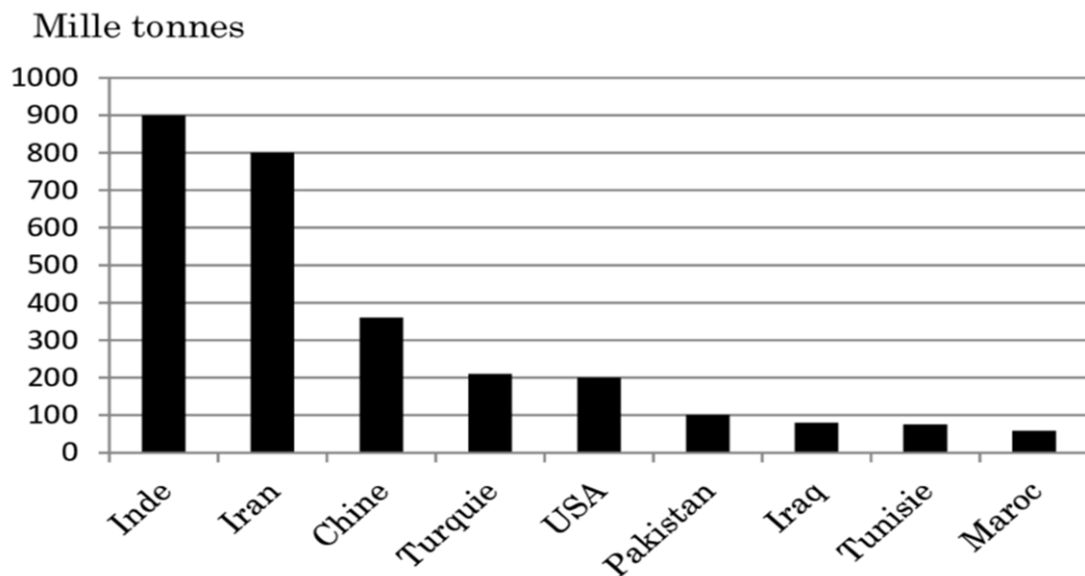


## 2. Origine et aires de répartition du grenadier :

Aujourd'hui, sa culture s'est propagée à travers le monde dans les zones subtropicales et tropicales en s'adaptant à des conditions climatiques variables et en indiquant ainsi, sa flexibilité, son adaptabilité et un large éventail de la diversité génétique (**Teixeira da Silva et al., 2013**).

Le grenadier est cultivé principalement en Iran, en Afghanistan, en Inde, en Chine et dans les pays du bassin méditerranéen (Tunisie, la Turquie, l'Égypte, l'Espagne et le Maroc) et notamment en Algérie. Toutefois, les plus importants producteurs de grenades sont les pays d'Orient dont l'Iran (production annuelle de 665000 tonnes), la Turquie, l'Inde mais aussi dans la zone méditerranéenne la Tunisie, le Maroc et l'Espagne qui est le principal pays producteur et exportateur de grenades de l'Union européenne (**Carbonell – Barrachina et al., 2012 ; Melgarejo-Sánchez et al., 2015** ). Aux États-Unis et plus particulièrement en Californie, la culture de la grenade est également très développée (**Lansky et Newman, 2007**)

La grande diversité de cette espèce est évidente dans différents pays. En fait, l'Espagne abrite la banque de matériel génétique en Europe avec plus de 104 variétés alors que la plus riche est celle du Turkménistan, où il y a la station expérimentale de ressources phylogénétiques, créée en 1934, avec 1117 variétés (**Mars, 1998 in Hmid, 2013**).



**Figure 11.** Les plus grands pays producteurs des grenades au monde (Melgarejo and Valero, 2012).

### 3. Classification :

En 1753, le grenadier a été classé par Carl Von Linné (1707-1778) comme suit :

|                           |                          |
|---------------------------|--------------------------|
| <b>Règne</b>              | Plantae                  |
| <b>Embranchement</b>      | Spermatophyta            |
| <b>Sous embranchement</b> | Magnoliophyta            |
| <b>Classe</b>             | Magnoliopsida            |
| <b>Ordre</b>              | Myrtales                 |
| <b>Famille</b>            | Punicaceae               |
| <b>Genre</b>              | Punica                   |
| <b>Espèce</b>             | <i>Punica granatum L</i> |

**Tableau 02** : classificaton de Punica granatum

### 4. Discription botanique :

La grenade est le fruit du grenadier qui est un petit arbre ou un grand arbuste (2 à 7 m de hauteur). Le tronc est recouvert d'une mince écorce grise ; se ramifie irrégulièrement en branches plus ou moins épineuses et hérissées, portant des feuilles caduques et lancéolées en spires (figure N°12) (**Boullard, 1997 ; Iserin, 2001**).

Les fleurs écarlates rouges, pourpres ou grenats sont solitaires à l'aisselle des feuilles ou réunies par groupe de 2 ou 3. Le calice est formé de 4 à 8 sépales, la corolle comprend 4 à 8 pétales, les étamines sont nombreuses et le gynécé est formé de 8 à 9 carpelles soudées au tube du calice (**Sheets et al., 1994**).

Le grenadier est considéré comme une espèce monoïque et développe (sur le même arbre) deux sortes de fleurs : des fleurs mâles (stérile) en «cloche», et des fleurs

hermaphrodites (fertile) en forme de « vase » (**Derin et Eti, 2001**). La dominance revient généralement aux fleurs mâles avec un taux de 60 à 70 % (Oukabli, 2004).

Le fruit, globuleux à peau épaisse, de 15 à 20 cm de diamètre, d'une couleur jaune à un rouge grenat, avec un calice persistant (figure N°2) (Sheets *et al.*, 1994). C'est une baie renfermant de nombreuses graines recouvertes de pulpe rouge acidulée et sucrée, constitue la partie comestible de la Grenade (**Iserin, 2001 ; Fabre et Ermosilla, 2008**).



**Figure12.** Image des fleurs et feuilles d'un grenadier.

## 5. Composés phénolique

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à synthétiser diverse substances naturelles secondaires, par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides et les lipides, dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables pour l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire.

La notion de métabolites secondaires résultait de trois groupes d'observation :

- Difficulté à attribuer à ces substances une fonction précise dans la physiologie même de la plante ;
- Une répartition très inégale selon les végétaux ;
- Une certaine « inertie biochimique » car ces substances sont rarement remobilisées dans la plante après qu'elles y ont été accumulées.

Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques très variés:

alcaloïdes, terpénoïdes, composés phénoliques, ... etc (Macheix *et al.*, 2005).

### **5.1. Flavonoïdes**

Les flavonoïdes (du latin *flavus* : jaune) sont des substances généralement colorées répandues chez les végétaux ; elles sont trouvées dissoutes dans la vacuole à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastides particuliers, les chromoplastes (Guignard, 1996).

Le terme flavonoïdes rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des poly phénols. Leur fonction principale semble être la coloration des plantes (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des betalaines), même si leur présence est parfois masquée par leur présence sous forme "leuco", ce qui explique leur intérêt commercial dans l'industrie alimentaire (Gabor, 1988).

### **5.2 .Tanins**

Les tanins sont des poly phénols que nous trouvons dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, grenade, datte, café, cacao,..). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation (Hemingway, 1992). Les tanins sont divisés en deux groupes :

- Les tanins condensés, formes de pro anthocyanidines (sous forme d'oligomères)
- Les tanins hydrolysables, esters des acides-phénols et de glucose.

## **6. Propriétés thérapeutiques**

### **6 .1. Propriétés anti oxydantes de la grenade**

Les effets bénéfiques sur la santé qui sont attribués à la consommation de fruits et de légumes sont, au moins en partie, liés à leurs activités anti oxydantes. En effet, chez les végétaux comestibles, nous comptons plusieurs centaines de molécules anti oxydantes. Parmi les plus connus de ces antioxydants naturels, nous trouvons la vitamine C, la vitamine E, les caroténoïdes ( $\beta$ -carotène et lycopène) et les poly phénols (Tanins, flavonoïdes, anthocyanes). Les grenades sont parmi les fruits les plus riches en vitamine C et en composés phénoliques et surtout en anthocyanines et acides phénoliques (El- Nemr *et al.*, 1992).

Pour qu'un composé soit défini comme antioxydant, il doit satisfaire deux Conditions :

1. Présent à faible concentration par rapport au substrat susceptible à oxyder, il doit retarder ou empêcher l'oxydation causée par des radicaux libres.

2. Les radicaux libres neutralisés par ce composé doivent former une entité stable, afin d'interrompre la chaîne des réactions d'oxydation. La composition des différentes parties du grenadier a montré l'existence de plusieurs types de polyphénols ayant des propriétés antioxydantes très importantes à savoir les tanins que l'on trouve en concentration très élevée dans les tiges et l'écorce du grenadier (Seeram et al., 2006).

### **6.2 Action préventive des maladies cardiovasculaires**

L'activité protectrice des polyphénols apportée par l'alimentation contre les maladies cardio-vasculaires est due à leur capacité à inhiber l'oxydation des LDL, la formation des macrophages et l'athérosclérose (Aviram et al., 2002).

### **6.3. Inhibition de l'oxydation des LDL**

Les polyphénols de jus de grenade protègent les LDL contre l'oxydation à médiation cellulaire via deux mécanismes qui mettent en jeu une interaction directe des polyphénols avec la lipoprotéine et/ou une action indirecte liée à l'accumulation des polyphénols dans les macrophages artériels. Il a ainsi été démontré que les polyphénols de grenade inhibent l'oxydation des LDL en détruisant les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote.

Par ailleurs, les polyphénols de grenade augmentent l'activité paraoxonase sérique, ce qui entraîne l'hydrolyse des peroxydes lipidiques dans les lipoprotéines oxydées et dans les lésions athérosclérotiques. Ces propriétés anti-oxydantes et antiathérogènes des polyphénols de grenade ont été démontrées *in vitro* ainsi qu'*in vivo* chez l'être humain et chez la souris athérosclérotique déficiente en apolipoprotéine (Aviram et al., 2002).

### **7. toxicité de grenade :**

La partie comestible de la grenade n'est pas toxique, par contre l'écorce riche en tanins peut être nuisible pour l'organisme. Beaucoup d'études ont prouvé que lorsque le contenu en tanins de la ration alimentaire dépassant 0,25% est cancérigène (Morton, 1987).

Afin de mieux comprendre l'effet de la consommation de grenade ou des extraits de grenade sur l'organisme et leur rôle dans le traitement de certaines maladies, il est nécessaire de connaître les substances bioactives et leurs propriétés. Nous allons nous intéresser aux composés phénoliques, leur classification et à certaines de leurs propriétés.

---

# ETUDE EXPERIMENTALE

---

---

## CHAPITRE I MATERIEL ET METHODES

---

### 3 I.1. Matériels et méthodes

Les expérimentations effectuées dans cette étude ont été effectuées dans le laboratoire de toxicologie, du département de Biologie appliquée de la Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Tébessa.

#### 4 I.1.1. Matériel animal

Notre étude expérimentale a été réalisée sur 16 souris (Espèce : *Mus musculus* L.), provenant de l'Institut Pasteur d'Alger, âgés de 2 à 3 semaines pesant environ 38 g. Il s'agit de mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans divers domaines de la recherche expérimentale.



**Figure 13** : La souris (*Mus musculus*)

### I.1.1.1. Classification de la souris :

**Tableau 03** : Classification de *Mus musculus*

|               |                             |
|---------------|-----------------------------|
| Règne         | Animal                      |
| Embranchement | Vertébrés                   |
| Classe        | Mammifères                  |
| Ordre         | Rongeurs                    |
| Famille       | Muridés                     |
| Genre         | Mus                         |
| Espèce        | <i>Mus musculus</i> L. 1758 |

### I.1.2 Matériel végétal

Le matériel végétal choisi dans la présente étude est représenté par les écorces sèches du grenadier (*Punicagranatum*L.). Elles sont originaires de la Wilaya de Tébessa (**photo 14**).



**Figure14:** Les écorces sèches du grenadier (*Punicagranatum*.L)



### **I.1.3. Produits chimiques:**

Dans ce travail, nous avons utilisé un pesticide de la famille des pyréthriinoïdes : la deltaméthrine produit par **Averstar industrial Co., Ltd**, Sz, de la Chine. Pour l'évaluation des paramètres biologiques nous avons utilisé des produits et des réactifs majoritairement provenant de Sigma Aldrich, Allemagne et Biochem, France.

## **5 I.2. Méthodes :**

### **I.2.1. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique :**

50g de poudre d'écorce de grenadiers sont ajoutés à 350 ml de méthanol et 150 ml d'eau distillée, puis le mélange est mis sous macération pendant 24h. Après filtration, les solvants ont été éliminés en utilisant un vaporisateur rotatif 40°C. L'extrait obtenu a été mis dans une boîte de Pétri et placé dans une étuve à 70°C pendant 24h jusqu'à ce qu'il devienne solide. La pesée permet de déterminer le rendement d'extraction selon la formule suivante : **(figure 15)**

### **I-2.2. Rendement d'extraction :**

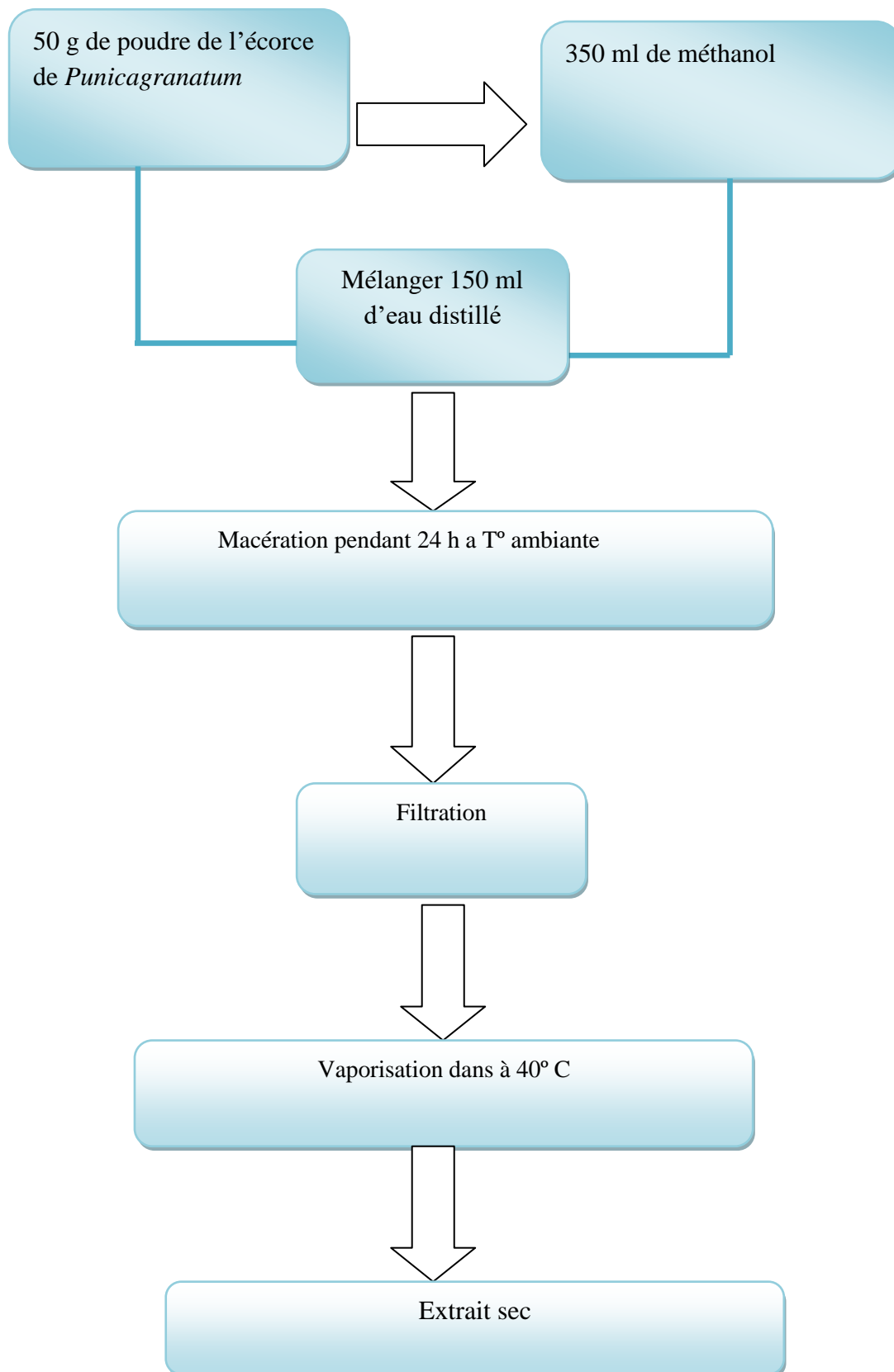
Le rendement de l'extrait hydro-méthanolique est le rapport entre le poids de l'extrait et le poids de la matière sèche de la plante.

$$R = P_{\text{ext}} / P_{\text{ms}} \times 100$$

**R** : Rendement en EM (en %).

**P<sub>ext</sub>** : Poids de l'extrait en g.

**P<sub>ms</sub>** : Poids de la matière sèche en g.



**Figure15:** Protocole de réalisation de l'extrait de (*Punicagranatum.L*)

### **I.2.2. Entretien des animaux**

Les souris ont été réparties en quatre (04) lots à raison de 4 souris par lot. Elles ont été soumises à une période d'adaptation de 15 jours dans l'animalerie de département de biologie appliquée, Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie, Université Larbi Tebessi, Tébessa ; où la température ambiante et une photopériode naturelle 12/12H

Les souris ont été logées individuellement dans des cages polyéthylène qui sont nettoyées deux fois par semaine jusqu'à la fin de l'expérimentation, les animaux ont accès à volonté à la nourriture et à la boisson.

### **I.2.3. Mesure de poids**

La mesure de poids est effectuée chaque jour pendant toute la durée du traitement, à l'aide d'une petite balance numérique (Marque *Aston*®).

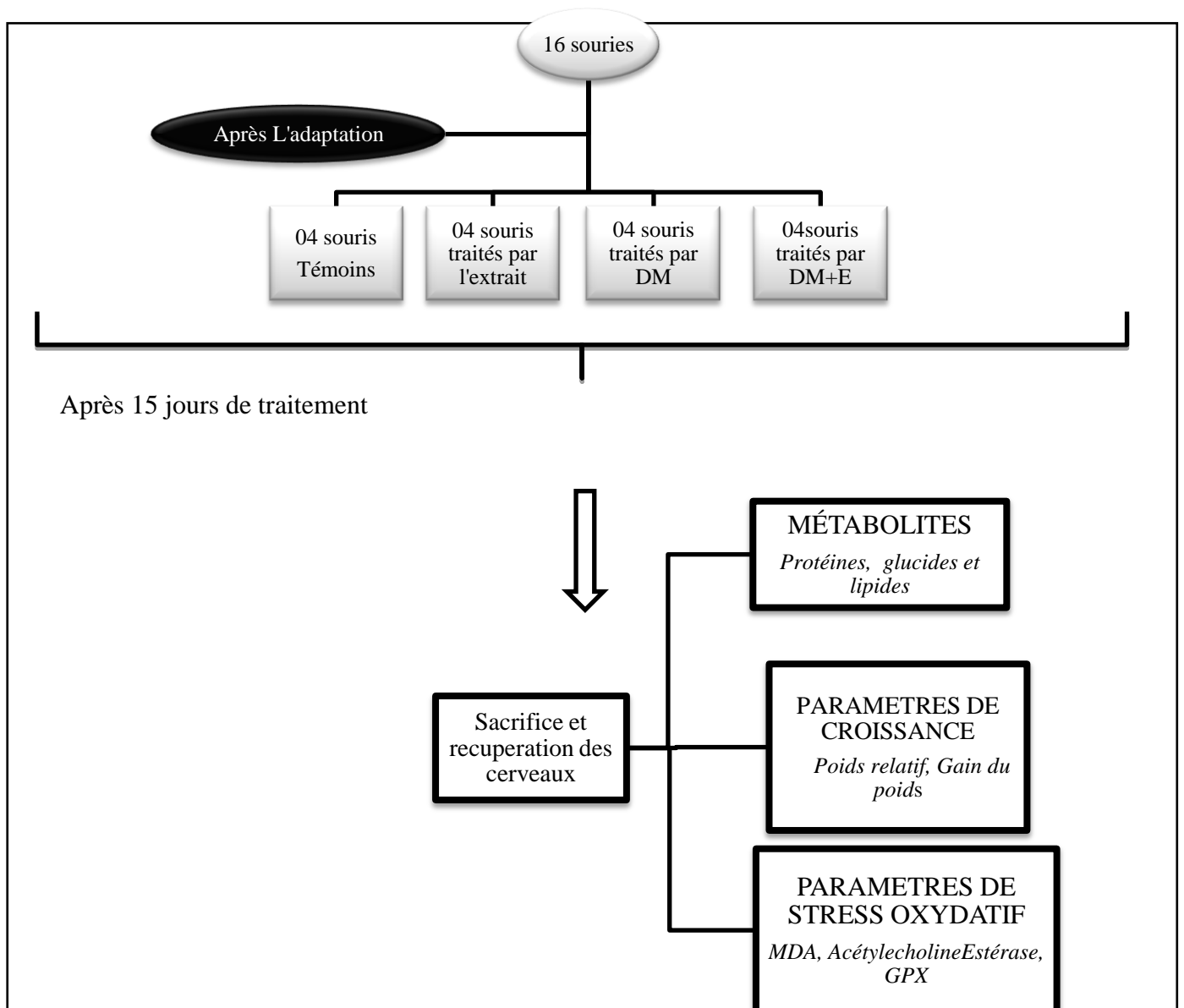
### **I.2.4. Choix des doses**

Dans cette étude, nous avons utilisé un pesticide (la deltaméthrine) seuls ou en mixture à une dose de 50 µl /g/j et administrées par voie orale pendant 15 jours. Le choix de ces doses est basé sur des études réalisées sur l'exploration de ce pesticides dans les matrices biologiques qui ont montré des valeurs de 50 µl /g/j de deltaméthrine (DM). Il est à mentionner que ces doses sont très proches à la réalité et sont susceptibles de contaminer la population générale. Par ailleurs, la dose de l'extrait 50mg/kg utilisée en traitement préventif des animaux contre la toxicité du pesticide.

### **I.2.5 Répartition et traitement des souris**

La répartition et le traitement des animaux sont récapitulés comme suit :

- 1) Lots T : lot témoin (T) reçoit l'eau minérale par gavage pendant **15** jours.
- 2) Lots E : traité par la (E) à la dose de 50 µl /g/j pendant **15** jours.
- 3) Lots DM : traité par la DM recevant 0.32 mg / ml / j pendant **15** jours.
- 4) Lots DM/E : traité par la E (50 µl /g/j) et la DM (0,32 mg /ml/j) pendant 15 jours.



**Figure16** : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

### **I.2.6.Sacrifice et récupération des cerveaux:**

A la fin de la période du traitement, les souris ont été sacrifiées le matin par décapitation. Après avoir récupéré et rincés les cerveaux dans le tampon de lavage (sérum physiologique NaCl 0.9%) à froid, ces derniers ont été pesés à l'aide d'une balance numérique (Marque *Aston*®) puis conservés au congélateur à -80°C pour le dosage des différents paramètres étudiés.

### **I.2.7 Estimation de poids relatif du cerveau :**

Le poids relatif des cerveaux extraits des souris (PRC [g/100g de poids corporel]) est calculé par rapport au poids total du lapin selon la formule suivante :

$$\text{PRC (g/100g de PT)} = \text{PC/PT} \times 100$$

**Pc** :poid du cerveau(g) .**PT** :poid totale du souris(g).**PRC** :poid relatif du cerveau(g)

## **6 I. 3.Evaluation des paramètres de stress oxydant :**

### **7 I.3.1.1.DOSAGE DE MDA :**

Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode d'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. Une quantité de 375µl de surnageant est prélevée dans un tube sec, auquel est ajouté un volume de 150µl de la solution TBS (tris 50mM, NaCl (150mM ; pH7.4) et 375µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%), le mélange est vortexé et centrifugé à 1000t/min pendant 10min. Un volume de 400µl est prélevé du surnageant auquel on ajoute 80µl du HCL 0.6M et 320µl de la solution tris-TBA(tris 26mM, TBA120mM). En fin, le mélange est vortexé et est ensuite incubé au bain marie à 80°C pendant 10 minutes. La lecture de la densité optique des échantillons est mesurée par spectrophotométrie à 530 nm.

La concentration de MDA a été déterminée en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du MDA ( $a = 1,53 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Les résultats ont été exprimés en µmol/l.

$\text{MDA (µmol /mg de prot)} = (\text{Do échantillon} / 1.53 \times 10^5) / \text{mg de prot.}$

### **I.3.2. Dosage de GPX :**

#### **I.3.2.1. Dosage de glutathion peroxydase (GPx)**

L'activité enzymatique de la GPx est mesurée par la méthode de Flohe et Gunzler (1984), en utilisant H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> comme substrat. Un volume de 0.2ml de cytosol/matrice est récupéré dans un tube contenant 0.4ml de GSH 0.1mM et 0.2ml de tampon phosphate 0.067M, pH 7.8. Le mélange est incubé au bain marie à 25°C pendant 05min. 0.2ml d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1.3mM est ajouté pour initier la réaction. Après 10min 1ml de TCA 1% (acide tri chloro-acétique) est rajouté dans le but d'arrêter la réaction et le mélange est mis dans la glace pendant 30min et centrifugé durant 10min à 3000t/mn. Un volume de 0.48 ml de surnageant est placé dans une cuve auquel on ajoute 2.2ml de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.32M avec 0.32ml de DNTB 1mM. Ce mélange forme un composé coloré et sa densité optique est mesurée à 412nm chaque 30sec pendant 05min.

La détermination de l'activité enzymatique de la GPx se fait à l'aide de la formule suivante:

$$\text{GPx } (\mu\text{mol GSH /mg de prot}) = \left[ \left( \frac{(\text{Do échantillon} - \text{Do étalon})}{\text{Do étalon}} \right) \times 0,04 \right] \times 5 / \text{mg de prot.}$$

DO échantillon: Densité optique de l'échantillon.

DO étalon: Densité optique de l'étalon.

0.04: Concentration de substrat (GSH).

### **8 I.4. Estimation des neurotransmetteurs :**

#### **I.4.1. Dosage de l'acétylcholinestérase :**

La méthode de dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) la plus courante (Ellman et al., 1961) consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'acétylthiocholine, dont l'hydrolyse libère de la thiocholine et de l'acide acétique. Les échantillons sont homogénéisés dans 1ml de solution détergente (38,03mg éthylène glycol tris-β-aminoéthyl éther N NN' N, 1ml triton X 100%, 5,845g NaCl, 80ml tampon tris 10mM) à l'aide d'un homogénéisateur à ultrasons puis centrifugés à 5000t/min pendant 5mn. Le surnageant est utilisé immédiatement pour la mesure de l'activité AChE. Les étapes du dosage d'AChE sont les suivantes : 100μl de surnageant sont additionnées à 100μl de DTNB (0,1M, pH 8) (39,6mg de DTNB, 15mg CO<sub>3</sub>Na, dans 10ml tris 0,1M, pH 7) et 1ml du tampon tris (0,1M, pH 7). Après 5min de repos

nécessaire pour épuiser la réaction spontanée, 100µl de substrat acétylthiocholine (118mg ACh dans 5ml d'eau distillée) sont ajoutés. La lecture des densités optiques s'effectue à 412nm toutes 14min pendant 20min.

## **9 I.5. Evaluation des paramètres biochimiques :**

### **10 I.5.1. Dosage des glucides**

Le dosage des glucides solubles totaux a été fait selon la méthode de Dubois, (1956) L'extraction des sucres solubles consiste à mettre 100µl d'homogénat dans des tubes à essai à ajouter 2ml d'éthanol à 80%, le tout est laissé 48h. Le dosage se fait par évaporation totale de l'alcool en mettant les tubes à essai dans un bain marie à 70°C. Après refroidissement, on complète le volume de chaque tube à essai à 20ml avec de l'eau distillée ensuite on prélève 1ml de la solution et agiter, puis on ajoute 2ml d'acide sulfurique concentré dans des tubes déposés préalablement dans un bain de glace. Enfin le tout est laissé se reposer pendant 25min, puis on procède à la lecture à une longueur d'onde de 490nm. Le calcul des concentrations réelles se fait par l'équation déduite de la gamme d'étalonnage préparé à partir d'une solution mère de glucose.

### **I.5.2. Dosage des lipides**

Les lipides tissulaires sont évaluée selon la méthode (Goldsworthy et al., 1972), on utilise 200µl d'homogénat dans 5ml de l'acide trichloroacétique 20% (TCA), on broyé et on filtré ce mélange ; et directement on appliqué une centrifugation à 5000t/min pendant 10min. Le culot est gardé dans tube contient 1ml du mélange Ether/Chlorophorme, et après centrifugé ce mélange a 5000t/min pendant 10min, on prélève 100µl du surnageant, auquel on ajoute 1ml de l'acide sulfurique et on met après agitation les tubes dans un bain marie à 100°C pendant 10min. Après refroidissement, on prélève encore une fois au moyen d'une micropipette 200µl de l'extrait auquel on ajoute 2.5ml du mélange sulfophosphanillinique à 85% (0.38g vanilline+195ml acide orthophosphorique+55ml H<sub>2</sub>O) et laissé ce mélange 30min à l'obscurité, la lecture à une longueur d'onde 530nm. Le calcul des concentrations réelles se fait à partir de l'équation déduite de la gamme d'étalonnage réalisée à partir d'une solution mère préparée en utilisant de l'huile de tournesol (Annexes)

### **I.5.3. Dosage des protéines**

La méthode utilisée pour le dosage des protéines est celle de Bradford (1976) qui utilise la BSA comme standard, sur le même échantillon utilisé pour doser les lipides, on récupère le culot issu de la deuxième centrifugation auquel on a ajouté 1ml du NaOH (0.1N) et on agite énergétiquement pour la dissolution des protéines. Après, on prélève, au moyen d'une micropipette, un volume de 100µl auquel on ajoute 4ml du réactif BBC (Bleu Brillant de Coumassie) (50mg BBC +50ml d'acide orthophosphorique à 85% et on complète à 500ml avec l'eau distillée). Ainsi une couleur bleue se développe et on passe directement les échantillons pour lecture à une longueur d'onde 595nm. Le calcul des concentrations se fait par l'équation déduite de la gamme d'étalonnage réalisé à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (Annexes).

### **I.6. Analyses statistique :**

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne (moyen  $\pm$  écart type), les comparaisons entre les groupes sont réalisées par une analyse de variance (one-way ANOVA). 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:

$p > 0,05$  = la différence n'est pas significative.

(\* )  $0,05 > P > 0,01$  = la différence est significative



---

# CHAPITRE II

## RESULTATS

### ET

## DISCUSSION

---

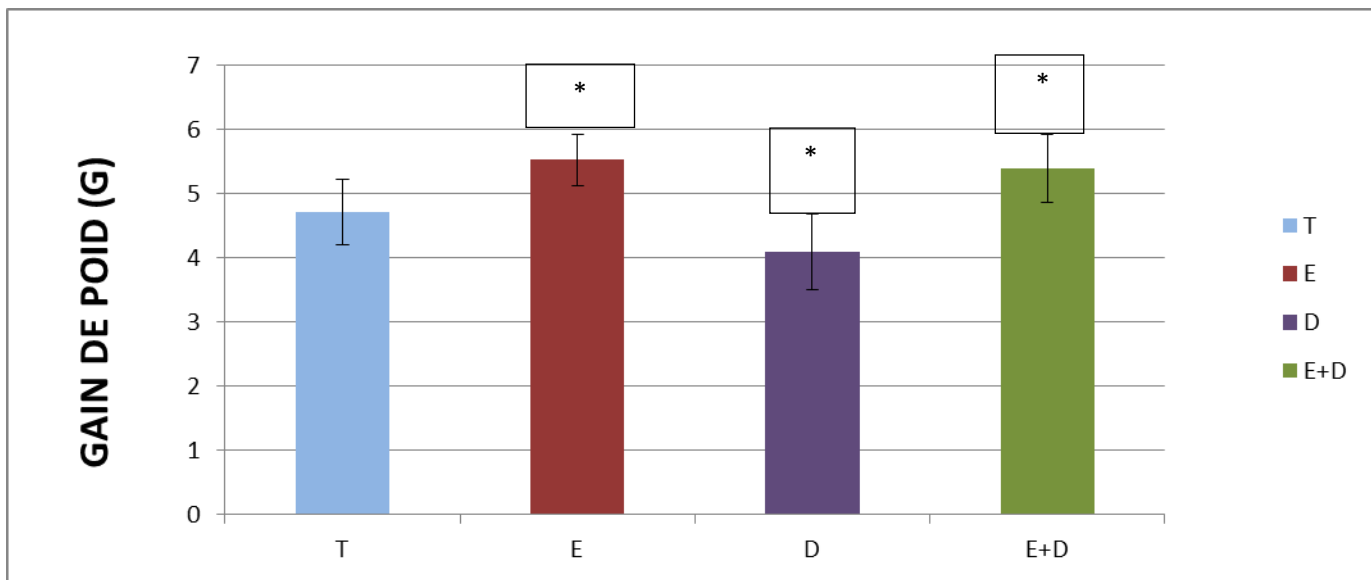
## I. Résultats

### I.1 Effets des pesticides et l'extrait sur les paramètres de la croissance des animaux

Les résultats de l'évaluation des paramètres de croissance en terme de le gain de poids et le poids relatif durant les 15 jours de traitement des différents groupes d'animaux par le pesticide, et le composé phénolique sont illustrés par les figures (17-18).

#### I.1.1 Gain du poids (GP) :

Les résultats de l'évaluation du gain de poids (fig.17) présentent une diminution significative ( $p \leq 0,05$ ) du gain du poids chez les lots traités par DM, en comparaison avec le lot témoin. Et une amélioration chez les lots du E et E+D (figure17)

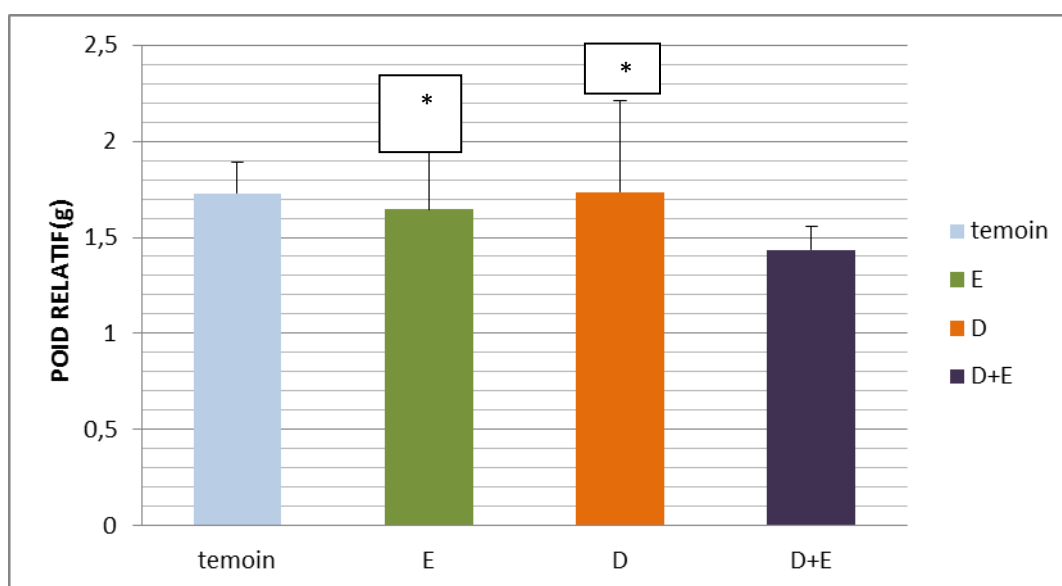


**Figure 17** : Evaluation du gain de poids corporel (GP) après 15 jours de traitement par le pesticide et l'extrait.

**T** : Témoin ; **E** : Extrait de grenade ; **D** : Deltaméthrine ; **E+D** : Mixture Extrait de grenade et Deltaméthrine. **P**: Niveau de signification ; \* Différence significative :  $p \leq 0.05$  ; \*\* Différence hautement significative :  $p \leq 0.01$  ; \*\*\* Différence très hautement significative :  $p \leq 0.001$ .

### I.1.2. Poids relatif du cerveau (PRC) :

Les résultats obtenus suite à l'évaluation du PR montrent une augmentation significative ( $P > 0,05$ ) (\*) du poids relatif du cerveau chez le groupe traité par la DM,E en comparaison avec le groupe témoin, par contre le traitement des animaux par la E et E+D associée aux pesticides a diminué cette augmentation d'une manière non significative par rapport au groupe témoin (fig.18).



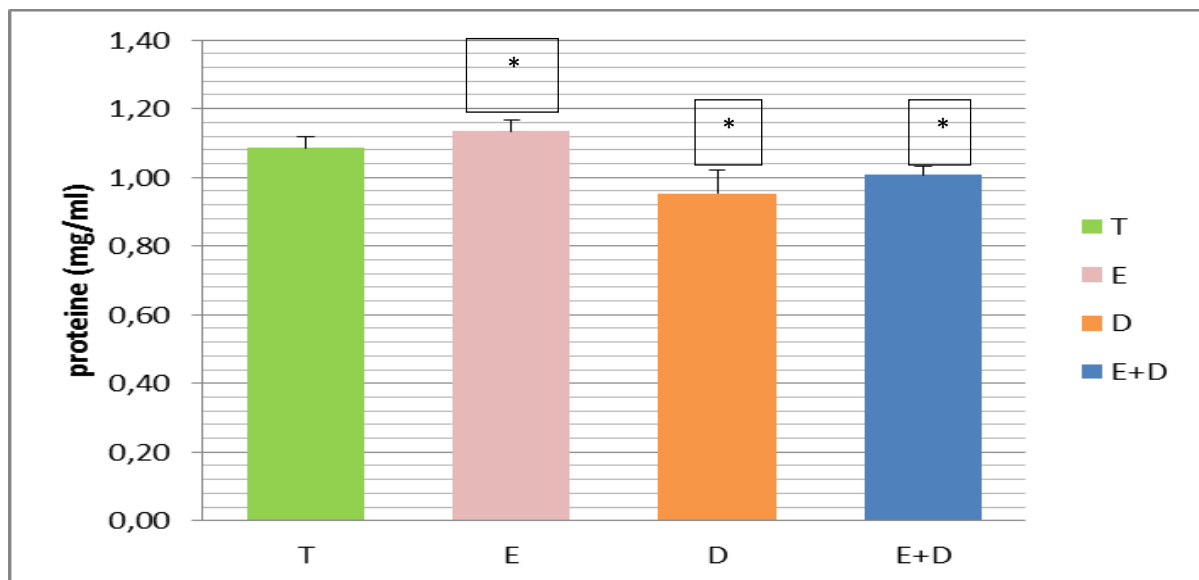
**Figure 18.** Evolution du poids relatif du cerveau (PRC) chez animaux après 15 jours de traitement par les pesticides et l'extrait

**T** : Témoin ; **E** : Extrait de grenade ; **D** : Deltamethrine ; **E+D** : Mixture Extrait de grenade et Deltamethrine. **P**: Niveau de signification ; \* Différence significative :  $p \leq 0.05$  ; \*\* Différence hautement significative :  $p \leq 0.01$  ; \*\*\* Différence très hautement significative :  $p \leq 0.001$ .

## I.2 Effets de pesticide et de l'extrait sur les paramètres biochimiques dans le cerveau :

### I.2.1 Effet sur le taux des protéines :

Les résultats obtenus montrent une diminution significative ( $p \leq 0,05$ ) du taux des protéines totales du cerveau chez les lots DM et E+D comparés au témoin, et on observe amélioration chez les lots traité par l'extrait végétal étudié. (figure 19)

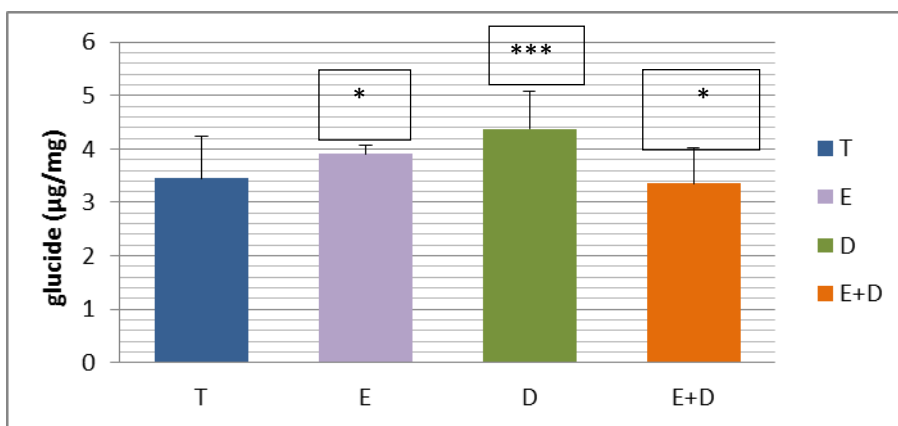


**Figure 19.** Variation du taux de protéines dans le cerveau après 15 jours de traitement par le pesticide et l'extrait.

**T** : Témoin ; **E** : Extrait de grenade ; **D** : Deltaméthrine ; **E+D** : Mixture Extrait de grenade et Deltaméthrine. **P**: Niveau de signification ; \* Différence significative :  $p \leq 0,05$  ; \*\* Différence hautement significative :  $p \leq 0,01$  ; \*\*\* Différence très hautement significative :  $p \leq 0,001$ .

### I.2.2 Effet sur le taux des glucides :

Les résultats obtenus montrent une augmentation de la teneur de glucide avec une différence très hautement significative ( $p < 0,001$ ) chez les lots traités par DM, et d'une façon Significative chez le lot traité par E+D et E par rapport au témoin (figure20)

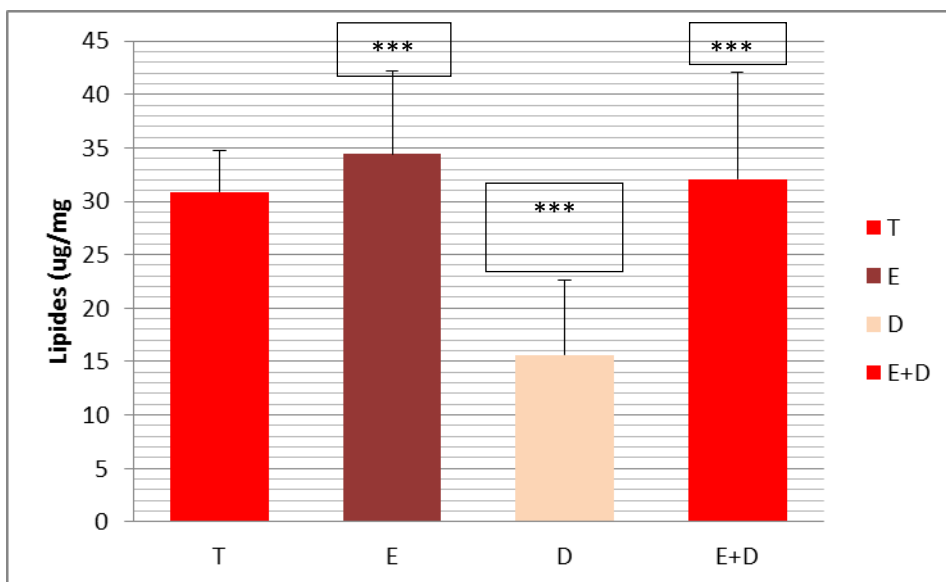


**Figure 20.** Variation du taux de glucides dans le cerveau après 15 jours de traitement par le pesticide et l'extrait

**T** : Témoin ; **E** : Extrait de grenade ; **D** : Deltaméthrine ; **E+D** : Mixture Extrait de grenade et Deltaméthrine. **P**: Niveau de signification ; \* Différence significative :  $p \leq 0.05$  ; \*\* Différence hautement significative :  $p \leq 0.01$  ; \*\*\* Différence très hautement significative :  $p \leq 0.001$ .

### I.2.3 Effet sur le taux des lipides:

Nous remarquons que le taux des lipides dans les lots traités par DM a diminué d'une façon très hautement significative ( $p < 0,001$ ) par rapport aux lots témoins mais après l'addition de l'extrait nous remarquons une augmentation très hautement significative par rapport au témoin.(figure21)

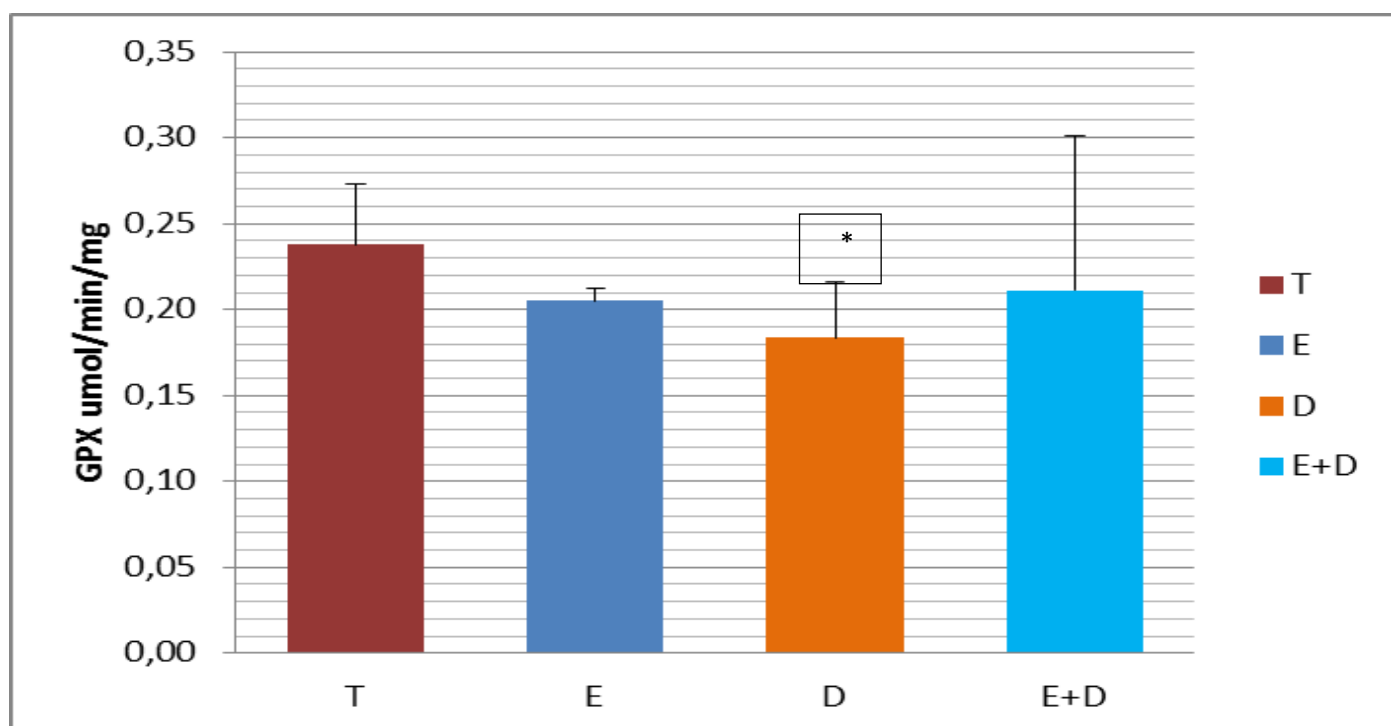


**Figure 21** : Variation du taux de lipides dans le cerveau après 15 jours de traitement par le pesticide et l'extrait

**T** : Témoin ; **E** : Extrait de grenade ; **D** : Deltaméthrine ; **E+D** : Mixture Extrait de grenade et Deltaméthrine. **P**: Niveau de signification ; \* Différence significative :  $p \leq 0.05$  ; \*\* Différence hautement significative :  $p \leq 0.01$  ; \*\*\* Différence très hautement significative :  $p \leq 0.001$ .

#### I.2.4 Glutathion peroxydase (GPX) :

Une diminution significative ( $p \leq 0,05$ ) (\*) de l'activité de GPXcytosolique a été enregistrée dans le cytosol des cellules cérébrales chez les lots traités par, DM par rapport au groupe témoin. Par contre, les résultats ne montrent pas une variation significative chez E et E+D (fig.22).

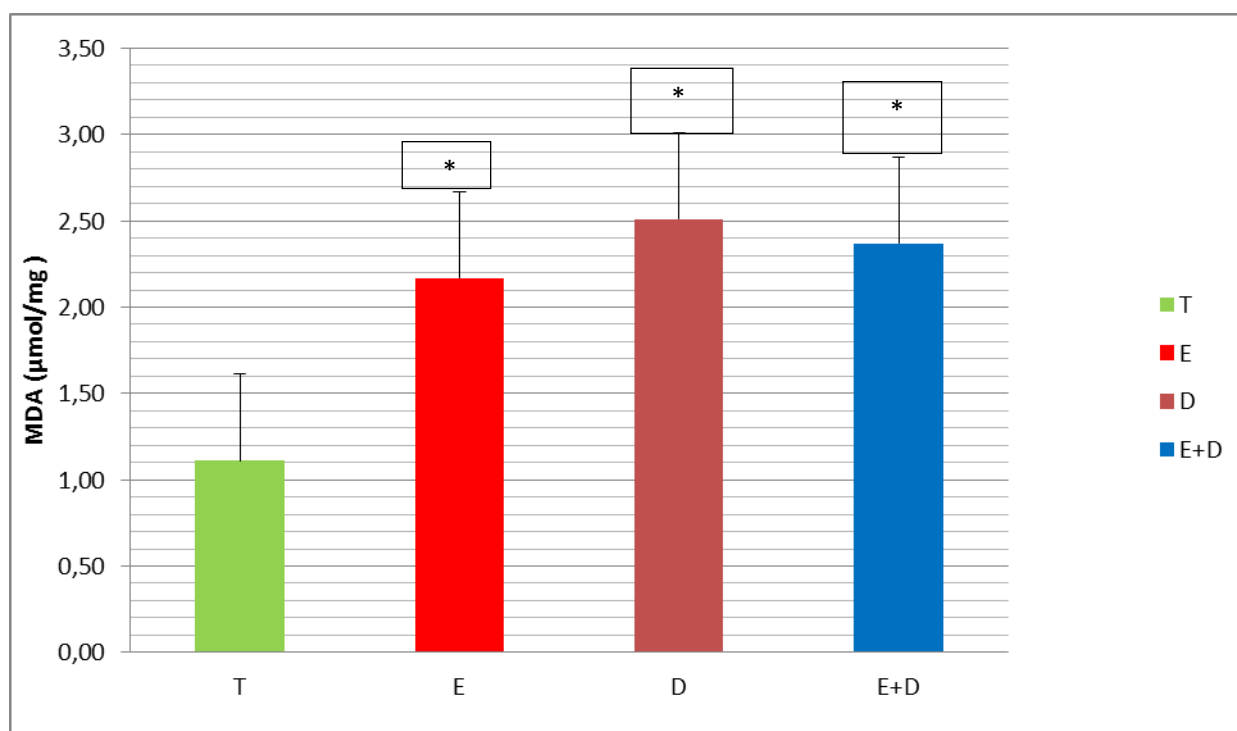


**Figure 22** : Variation du taux de GPX dans le cerveau après 15 jours de traitement par le pesticide et l'extrait.

**T** : Témoin ; **E** : Extrait de grenade ; **D** : Deltamethrine ; **E+D** : Mixture Extrait de grenade et Deltamethrine. **P**: Niveau de signification ; \* Différence significative :  $p \leq 0.05$  ; \*\* Différence hautement significative :  $p \leq 0.01$  ; \*\*\* Différence très hautement significative :  $p \leq 0.001$ .

### I.2.5 Effet sur le taux de malondialdéhyde (MDA) :

Nos résultats montrent une augmentation significative ( $p \leq 0,05$ ) du taux de MDA cytosolique chez les groupes traités par la DM et E+D et E, par rapport au groupe témoin (fig.23).



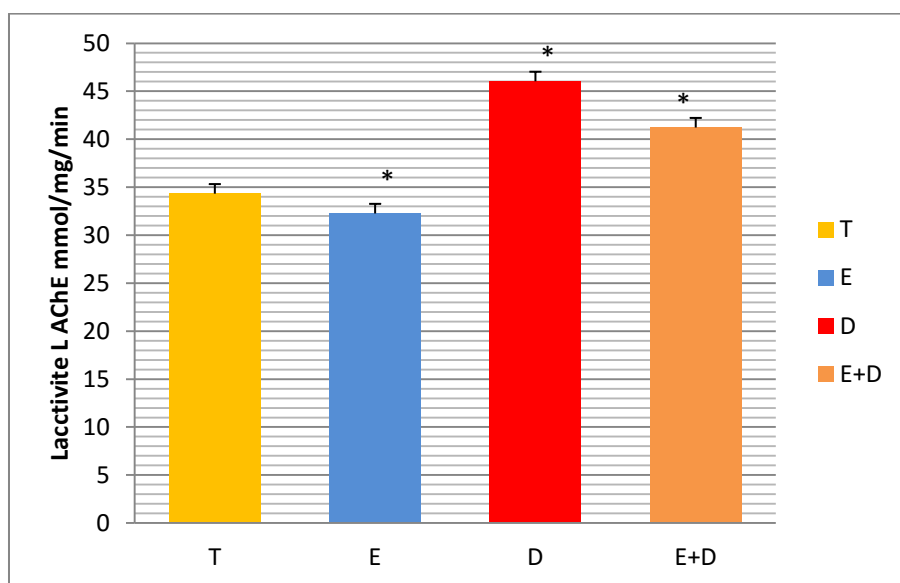
**Figure 23.** Variation du taux de MDA dans le cerveau après 15 jours de traitement par le pesticide et l'extrait.

**T** : Témoin ; **E** : Extrait de grenade ; **D** : Deltaméthrine ; **E+D** : Mixture Extrait de grenade et Deltaméthrine. **P**: Niveau de signification ; \* Différence significative :  $p \leq 0,05$ ; \*\* Différence hautement significative :  $p \leq 0,01$  ; \*\*\* Différence très hautement significative :  $p \leq 0,001$ .



### I.2.5 Effet sur l'activité de l'Acétylcholinestérase (AChE) :

Nos résultats montrent une augmentation significative ( $p \leq 0,05$ ) de l'activité de l'AChE chez les groupes traités par la DM et E+D et E, par rapport au groupe témoin (fig.24).



**Figure 24** : Variation du taux de l'AChE dans le cerveau après 15 jours de traitement par le pesticide et l'extrait

**T** : Témoin ; **E** : Extrait de grenade ; **D** : Deltaméthrine ; **E+D** : Mixture Extrait de grenade et Deltaméthrine. **P**: Niveau de signification ; \* Différence significative :  $p \leq 0.05$  ; \*\* Différence hautement significative :  $p \leq 0.01$  ; \*\*\* Différence très hautement significative :  $p \leq 0.001$ .

## II. Discussion :

Le stress oxydatif est l'un des principaux mécanismes de toxicité associés à une panoplie de xénobiotiques dans l'environnement, parmi lesquels, on retrouve les pesticides et les produits phytosanitaires (**Lauvverys et al., 2007 ; Lukaszewicz, 2008 ; Michael et al., 2016**).

La grenade est l'un des produits les plus riches en antioxydants notamment les polyphénols solubles, les tanins et les anthocyanes (**Gil et al., 2000**). Ces constituants présentent diverses activités biologiques telles que l'élimination des radicaux libres, l'inhibition de la croissance microbienne et la diminution des risques de maladies cardiovasculaires, cérébro-vasculaires et certains cancers (**Mena et al., 2011**). Les extraits du grenadier peuvent être utilisés aussi pour la prévention ou la guérison de l'athérosclérose, des diarrhées, des ulcères gastriques (**Holland et al., 2009**).

Dans ce travail nous avons fixé comme objectif en premier lieu la mise en évidence d'une éventuelle neurotoxicité de deltaméthrine (DM), et en second lieu à l'intérêt de la protection contre cette toxicité par l'extrait de grenadier sur les souris *Mus musculus*.

Les résultats de notre étude ont montré que le traitement oral des souris par le pesticide (deltaméthrine) pendant 15 jours a entraîné une neurotoxicité et a engendré une perturbation des paramètres biochimiques et du stress oxydant.

### II.1. Effets de pesticide et l'extrait de grenadier sur les paramètres de la croissance globale :

Les résultats de l'évaluation des paramètres pondéraux suggèrent que l'administration de deltaméthrine provoque un ralentissement de la croissance corporelle des souris traitées. Cet effet peut être traduit par la perturbation du métabolisme cellulaire sous l'effet du stress oxydatif engendré par les ROS constaté dans cette étude, ainsi que par d'autres médiateurs chimiques tels que certaines cytokines pro inflammatoires que l'organisme puisse libérer après expositions aux toxiques tels que le pesticide (**Carole et Harve, 2011 ; Viviana, 2015**).

Par ailleurs, l'utilisation de l'extrait a montré une amélioration de ces paramètres pondéraux des animaux. Ceci pourrait être la conséquence de son pouvoir antioxydant en normalisant l'homéostasie redox intracellulaire et le

rétablissement de l'état psychique des animaux (**Cliona *et al.*, 2011 ; Toumi *et al.*, 2013**).

## **II.2. Effet de pesticide et l'extrait sur les métabolites :**

### **10.1 II.2.1. Protéines :**

La diminution du taux des protéines après l'exposition des souris aux pesticides peut être due à l'inhibition de la synthèse protéique et à la faible survie cellulaire due à un système enzymatique antioxydant déficient, ces résultats sont en concomitance avec ceux rapportés par **Sharma, Firdous et Singh (2014)**. En revanche, selon les résultats obtenus lors de l'utilisation de l'extrait comme étant molécule cytoprotectrice il s'est avéré qu'il a bien amélioré le taux des protéines. Ce pouvoir préventif pourrait être attribué aux caractères moléculaires antioxydant de ce polyphénol à travers le groupement catéchol, les liens insaturés du noyau C, la fonction 4-oxo et les groupes à affinité chélatrice des métaux qui caractérisent ce composé (**Leclerc, 2012**). Ces résultats sont en accord avec de nombreuses études sur ce polyphénol (**Williams *et al.*, 2004 ; Lahouel *et al.*, 2016 ; Lee *et al.*, 2016**).

### **II.2.2. Glucides :**

Les **glucides** sont présents dans l'organisme sous différentes formes, la forme la plus courante est le glucose, obtenu à partir des sucres simples ou complexes apportés par l'alimentation, ils servent de carburant rapidement utilisable par les organes (**Jurgens G. 1992**). De plus, les glucides sont une source primaire et immédiate d'énergie (**Albert B., 1986**).

Les résultats obtenus montrent une augmentation de la teneur de glucide avec une différence très hautement significative ( $P \leq 0.001$ ) chez les rats traités par (DM).

On peut expliquer cette augmentation par l'inhibition enzymatique provoquée par la (DM) qui se traduit par une préservation de l'énergie. Dans les conditions de stress, les réserves de glucides sont épuisées pour satisfaire les demandes énergétiques (**El-Wakil H.B., Radwan M.A. 1991**).

Cette augmentation est probablement justifiée aussi par l'effet direct sur l'Hexokinase, enzyme responsable de la phosphorylation du glucose en glucose 6-phosphate et le déclenchement du métabolisme du glucose, est une enzyme principale chez les mammifères. (**Canesi L., 1998**).

### **II.2.3. Lipides :**

Nos résultats révèlent une diminution des **lipides** chez les souris traités par la (DM) dans le cerveau par rapport aux témoins, cette diminution peut s'expliquer par la dégradation des lipides par l'activation de la peroxydation lipidique, cette voie stimulée par des radicaux libres en cas de stress oxydative générée par la Deltamethrine (**Aurousseau B. 2002**).

Ces résultats sont confirmés par le taux élevé du MDA (**Padmaja et Rao, 1994**).

L'administration orale de l'extrait chez les souris diminue les paramètres du profil lipidique et augmente les enzymes antioxydants car il agit comme un piègeur de radicaux libres d'oxygène. (**Suramanian M., 1994**).

### **II.3. Effet de pesticide (DM) et l'extrait sur les paramètres du stress oxydatif :**

Les pesticides pyréthriinoïdes provoquent l'augmentation de la production d'espèces réactives à l'oxygène (ERO) générant ainsi le stress oxydatif dans les différents tissus (**Filiz et al,2011**).En fait, l'un des mécanismes moléculaires sous-jacents à la toxicité de certains pesticides semble être la peroxydation lipidique (POL).

#### **II.3.1. MDA**

Le **malondialdéhyde (MDA)** est l'un des produits terminaux formes lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) médiée par les radicaux libres, et l'augmentation de taux des MDA considéré comme un indicateur important de la peroxydation lipidique (**Fatma et al,2010**) .

Plusieurs études (**Pareek et al, 3013, Fatma et Hoda, 2014 ;Mustafa et al , 2009** ) ont signalé une augmentation des taux de MDA et mis en évidence une augmentation de la peroxydation lipidique après un traitement par les pesticides pyréthriinoïdes cette augmentation a été liées avec des dommages au niveau des membranes cellulaire.

Dans notre étude Nous enregistrons une augmentation du marqueur de la peroxydation lipidique le MDA, dans le cerveau chez le lot exposé a la deltaméthrine, par rapport aux témoins, ce qui indique une diminution des antioxydants qui jouent un rôle très importants dans l'inhibition de la peroxydation lipidique (**Vertuani et al., 2004**), il est important de savoir que l'oxydation des lipides rendent les membranes plus rigides aboutissant au développement de beaucoup de processus pathologiques (**Das et al., 2004 ; Levin et al., 1990**). Ces résultats peuvent être expliqués par l'accumulation des radicaux libres, générés par

la deltaméthrine le tous se traduit par une peroxydation lipidique. Sachant que les peroxydes lipidiques peuvent causer des dommages graves non seulement dans la membrane cellulaire mais aussi pouvant inhiber plusieurs enzymes, et altérer également la fonction mitochondriale conduisant au final à la mort cellulaire (**Buege et al., 1984 ; Carole et al., 2011**).

L'utilisation de l'extrait de grenadier comme molécule protectrice contre les effets délétères des pesticides a amélioré de façon significative dans le cytosol du cerveau, la propriété du quercétine peut être due à son pouvoir de chélation des métaux, piège les ROS et leur activité antioxydant, aide à soulager le stress oxydatif, la survie cellulaire et augmente le niveau de protéines totales. (**Buege et al., 1984 ; Carole et al., 2011**).

### **II.3.2. Effet de pesticide (DM) et l'extrait sur le taux GPx :**

La **GPx** est l'enzyme qui joue un rôle primordial dans la minimisation des dommages oxydatifs. L'exposition aux pesticides a réduit le niveau de GPx dans le cerveau des souris dans cette étude. Cette réduction peut être due à l'appauvrissement du GSH. Les mêmes résultats sont apportés par d'autres travaux sur l'impact des pesticides et sur le cerveau de l'organisme animal (**Di-Monte et Lavasani, 2002 ; Arora et al., 2016 ; Rjeibi, 2016**).

La diminution de l'activité enzymatique de la GPx, Il a été rapportée que l'exposition aux pesticides pyréthrinoïdes, engendre l'induction de l'activité de la SOD mitochondriale et cytosolique Ceci pourrait être expliqué par la production de l'anion superoxyde, qui stimule l'activité de la SOD, laquelle, en dismutant  $O_2^{\circ-}$ , produit de l' $H_2O_2$  (**Shanfeng ., Hong Zhang., 2013**).

### **II.3.3. Activité de l'acétylcholinestérase :**

Les résultats de cette étude montrent une augmentation significative de l'activité de l'AChE dans le cerveau chez les souris exposées par le pesticide. Cette augmentation implique la réduction de l'ACh, traduisant une variation neurocomportementale telle que la réduction de l'efficacité d'apprentissage et du potentiel de mémoire. Ces résultats sont conformes aux conclusions d'autres études évaluant l'impact de pesticide sur le corps animal (**Williams et Kauer, 1997 ; Valérie et al., 2015**).

---

# Conclusion

---

## Conclusion

L'utilisation des pesticides soulève un certain nombre de préoccupations environnementales et sanitaires. Il est peut-être le temps que la population ainsi que les autorités responsables prennent conscience de ce problème pour bien le gérer par l'utilisation prudente de ces produits toxiques ou bien par l'utilisation d'une agriculture biologique, semi-biologique ou même par le développement durable. À travers le travail que nous avons abordé, on peut conclure que :

L'exposition sub-chronique à la DM respectivement à une dose de 50  $\mu\text{l/g/j}$  : aux souris pendant 15 jours peuvent produire :

- ✓ Une perturbation du métabolisme (protéines, glucides, lipides) accompagné par un déficit pondéral remarquable (le poids relatif et le gain de poids).
- ✓ Provoquent également des altérations dans le bilan de stress oxydatif qui traduit par une perturbation de taux de MDA, l'activité de GPx et d'AChE.

Le gavage de l'extrait à dose de 50  $\mu\text{l/g/j}$  pendant 15 jours aux souris exposés au DM a rétabli toutes les valeurs à la normal, ce qui traduit l'effet protecteur de l'extrait méthanolique sur la fonction neuronale. Ces résultats confirment que le traitement par l'extrait à dose de 50  $\mu\text{l/g/j}$  a pu protéger l'organisme contre les effets neurotoxiques des pesticides (DM).

---

# REFERENCES

---



## REFERENCES

### A

**Abdel-Daim M., El-Bialy E., Haidy G., Abdel R., Abeer M., Radi A., Ahmed H ., 2016.** «Antagonistic effects of *Spirulina platensis* against subacute Deltamethrin toxicity in mice». *Biomed Pharmacother.* 77:79–85.

**Abiola F.A., Mohamadou B., Baschirou., 1990.** «Utilisation du butox N. D. (deltaméthrine) dans le contrôle des glossines, vecteurs de la trypanosome sur le plateau de l'Amadoua au Cameroun». *Revue Méd. Vét.* 7:565-573.

**ACTA (2002).** "Recueil des effets non intentionnels des produits phytosanitaires". 8<sup>ème</sup>

**ACTA (2005).** Index Phytosanitaire ACTA 2005. 41<sup>ème</sup>. *Association de Coordination Technique Agricole.* France, 820 p.

**Ahouangninou C., Fayomi B.E. et Martin T. (2011).** Évaluation des risques sanitaires et

**Albanis, T.A., Hela, D.G., Sakellarides, T.M., Konstantinou, I.K., 1998.** Monitoring of

**Albert B., Bray D., Lewis D., Raff M., Roberts K., Watson J. 1986.** Biologie moléculaire de la cellule. Edition Flammarion. p: 256.

antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires.

**Arvalis (2012).** 54 solutions concrètes pour réduire l'impact des produits phytosanitaires.

Aurélié G., 2015. Dynamiques neuro-gliales locales et réseaux complexes pour l'étude de la relation entre structure et fonction cérébrales. Optimisation et contrôle. Thèse de doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie - Paris VI. pp :144.

**Aurousseau B. 2002.** Les radicaux libres dans l'organisme des animaux : Conséquences sur la reproduction et la physiologie et la qualité de leurs produits Badji Mokhtar Annaba. *INRA Prod. Anim.* 15(1). p: 67-82.

### B

**Boullard B. (1997).** Dictionnaire plantes et champignons. Edition ESTEM, Paris, p : 380.

Buege J.A., et Aust S.D., 1984. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 105 pp : 302-310.

### C

**Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Charnay M.P. et Coquet Y. (2005).** Les pesticides

Canesi L., Ciaccia C., Piccolib G., Stocchib V., Viarengo A., Gallo G. 1998. In vitro and in vivo effects of heavy metals on mussel digestive gland hexokinase activity: the role of glutathione. p: 261–268.

**Canesi L., Ciaccia C., Piccolib G., Stocchib V., Viarengo A., Gallo G. 1998.** In vitro and in vivo effects of heavy metals on mussel digestive gland hexo kinase activity: the role of glutathione. p: 261–268.

**Carole I and Harvé Q., 2011).** Désordres métaboliques et réanimation : de la physiopathologie au traitement. Berlin Heidelberg. New York. ISBN: 978-2-287-

**CCHS. 2001.** deltamethrin, Last revision date In : base de données HSDB. Hamilton : Centre canadien d'Hygiène et de Sécurité d'aménagement et d'urbanisme, Observatoire régional de sante d'Ile-de-France (IAU/ORS).58-62

*Chromatography A* **823** : 59-71

Chuiko GM., Zhelnin YY., Gornaya PVA., 1997. Seasonal fluctuations in brain acetylcholinesterase activity and soluble protein content in roach (*Rutilus rutilus* L): a freshwater fish from Northwest Russia». *Comp. Biochem Physiol.* 107: 251-257

Colborn T., 2006. «A case for revisiting the safety of pesticides: a closer look at neurodevelopment». *Environ Health Perspect.* 114 : 10-17.

commune rurale de Tori-Bossito (Sud-Bénin). *Cah Agric*, vol. **20**, n° 3, 216-222.

Costa L.G., 2006. «Current issues in organophosphate toxicology». *Clin Chim Acta.* 366: 1 13 . dans le sol, conséquences agronomiques et environnementales. Edition France Agricole,

Paris, 637 p.

de la Protection des Plantes, 11 p.

death--basic mechanisms and prevention. *Drug discoveries & therapeutics*, vol 4, no 3, December 2008.

## ***E***

édition, Paris, 492 p.

**El-Wakil H.B., Radwan M.A. 1991.** Biochemical studies on the terrestrial snail *Eobania vermiculata* (Muller) treated with some pesticides. *J.Environ.sci.Health.* p: 26.

environnementaux des pratiques phytosanitaires des producteurs maraîchers dans la

**Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jurgens G. 1992.** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. p :341-349.

## ***F***

**Fleury M Sc. (2003).** Les organismes génétiquement modifiés (OGM) et la résistance aux

**Flora S.J.S., 2009.** Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for

## ***G***

**Gatignol C. et Etienne J.C. (2010).** Pesticides et santé. Rapport de l'office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques, 262 p.

**Gil, M. I.,** Tomas-Barberan, F.A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D.M., Kader, A.A.,

Greece) by means of solidphase extraction disks and gas chromatography. *Journal of*

Grojean S., Lièvre V., Koziel V., Vert P., Daval JL., 2001. « Bilirubin exerts additional toxic effects in hypoxic cultured neurons from the developing rat brain by the recruitment of glutamate neurotoxicity ». *Pediatric Research*. 49: 507 - 513.  
Guide pratique, édition Est, Paris, 96 p.

## H

**Hanfeng Ling ,n., HongZhang, .(2013)** .Influences of chlorpyrifos on antioxidant stress in rat erythrocytes induced by chlorpyrifos and the protective effect of zinc. *Substances and Environmental Engineering*. 47 :1319-1328.

**Hebert D. (2006)**. Preface. In : *Pomegranates Ancient Roots to Modern. Medicine* CRC Press

**Hileman B. (1994)**. Environmental estrogens linked to reproductive abnormalities and cancer. *Chem. Eng. News*, **72**: 19-23.

**Holland, D., Hatib, K., Bar-Ya'akov, I., 2009**. Pomegranate: botany. Horticulture. breeding. *Horticultural Reviews*. 35, 127-191.

Horticultural Sciences Department, Florida Institute of Food and Agricultural Sciences,

## I

INRS,. 2016. Deltamethrine. Base de données fiches toxicologiques. 07pp. Consultable sur le site <http://www.inrs.fr/fichetox>.

INRS., 2007. «Deltaméthrine. Institut National de Recherché et de Sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles. Établie par les services techniques et médicaux de l'INRS». Paris. Fiche toxicologique 193 :11pp.

ISBN : 2-909455-99-8.

**Iserin P. (2001)**. Encyclopédie des Plantes Médicinales : identification, préparation, soin.

## K

**Koechlin Ramonatox C., 2006**. Oxygène, stress oxydant et suppléments

## L

Lahouel A., Kebieche M., Lakroun Z., Rouabhi R., Fetoui H., Chtourou Y., Zama D., Soulimani R., 2016. «Neurobehavioral deficits and brain oxidative stress induced by chronic low dose exposure of persistent organic pollutants mixture in adult female rat». *Environmental Science and Pollution Research*. 23 (19): 19030-40.

Lauvverys R., Vincent H., Dominique L., (2007). *Toxicologie industrielle et intoxication professionnelles* Ed Masson 31–288

**Leclerc P.L., 2012** .Elaboration de nanoparticules de protéines de lactosérum comme système d'administration de quercétine en système gastro-intestinal. Thèse doctorat en Sciences et technologie des aliments (Ph.D.) Université Laval Québec.pp: 12(44) : 57-110.

l'environnement, 50 p.

Longevity, vol 2, no 4, p. 191-206

### *M*

**Macheix J. J., Fleuriet A. et Jay-Allemand C.H. (2005)**. Les composés phénoliques des

**Melgarejo, P., Valero, D., 2012**. Series A: Mediterranean Seminars. N° 103.

**Morton J. (1987)**. Pomegranate. In: Fruits of warm climates. Miami, Florida. p. 352–355.

### *N*

**Nagar A., Sharma V., Chhipa A.S., 2017**. Role of antioxidants in biological system.

Mintage Journal of Pharmaceutical and Medical Sciences, vol 6, no 1, p. 7-12.

**Nimse S.B., Pal D., 2015**. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction

mechanisms. Rsc Advances, vol.5, no35, p. 27.

Nutrition clinique et métabolisme, vol. 20, no 4, p. 165-177.

### *P*

p.144-167.

pesticide residues and their metabolites in surface and underground waters of Imathia (N.

pesticides. Rapport présenté comme exigence partielle du doctorat en sciences de

Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne J.O., 2002. «Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante». Nutrition clinique et Métabolisme. 16: 233-239.

properties of fruit and vegetable products. Technology and Nutrition .No. 157. CEBAS (CSIC). Spain.

Protection des Plantes 6 p.

### *R*

**Rahman T., Hosen I., Islam M.T., Shekhar H.U., 2012**. Oxidative stress and human

health. Advances in Bioscience and Biotechnology, vol 3, no 7, pp. 997

### *S*

**Shanfeng Ling ,n., HongZhang, .(2013)** .Influences of chlorpyrifos on antioxidant

**Sharma P., Firdous S., Singh R., 2014.** « Neurotoxic effect of cypermethrin and protective role of resveratrol in Wistar rats». *Int J Nutr Pharmacol Neurol Dis.* 4:104-11.

**Sheets M.D., Du Bois M.L. et Williamson J.G. (1994).** *The Pomegranate.* HS, 44: 1-3.

**Silva J.P., Coutinho O.P., 2010.** Free radicals in the regulation of damage and cell

Soulimani R., 2016.«Nurobehavioral deficits and brain oxidative stress induced by chronic low dose exposure of persistent organic pollutants mixture in adult female rat». *Environmental Science and Pollution Research.* 23 (19): 19030-40.

## S

strategies against metal and metalloid exposure. *Oxidative Medicine and Cellular stress i rat erythrocytes induced by chlorpyrifos and the protective effect of zinc .*

*Substances and Environmental Engineering.* 47 :1319-1328.

**Suramanian M., Sreejayan N., Rao N., Devasagayam T., Singh B. 1994.** Diminution of singlet oxygen DNA damage by curcumin and related antioxidants, *Mutat Res.* p: 249-311.

## T

Taylor & Francis Group Medicinal and aromatic plants—industrial profiles, 263p, ISBN: 0-

**Tomas-Barberan, F.A., Gil, M.I., 2008.** Improving the health-promoting

**Toumi H., 2013.** Ecotoxicité de la deltaméthrine et du malathion sur différentes souches de *Daphnia magna*. Thèse de Doctorat en cotutelle entre l'université de Lorraine et l'université de Carthage. 208p.

## U

**UIPP (2011).** L'utilité des produits phytopharmaceutiques. Union des Industries de la

**UIPP (2009).** Les produits phytopharmaceutiques et l'environnement. Union des Industries

University of Florida. Original publication date April 1994. Revised April 2004. Reviewed végétaux. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne, 190 p. ISBN : 2-

## W

**WHO., (1990).** IPCS INCHEM. Deltamethrin, Environmental health criteria EHC 97

Williams RJ., Spencer JPE., Rice-Evans C., 2004. «Serial review: Flavonoids and isoflavones: Absorption, metabolism and bioactivity». *Free Radical Biology and Medicine* .36: 838-849.

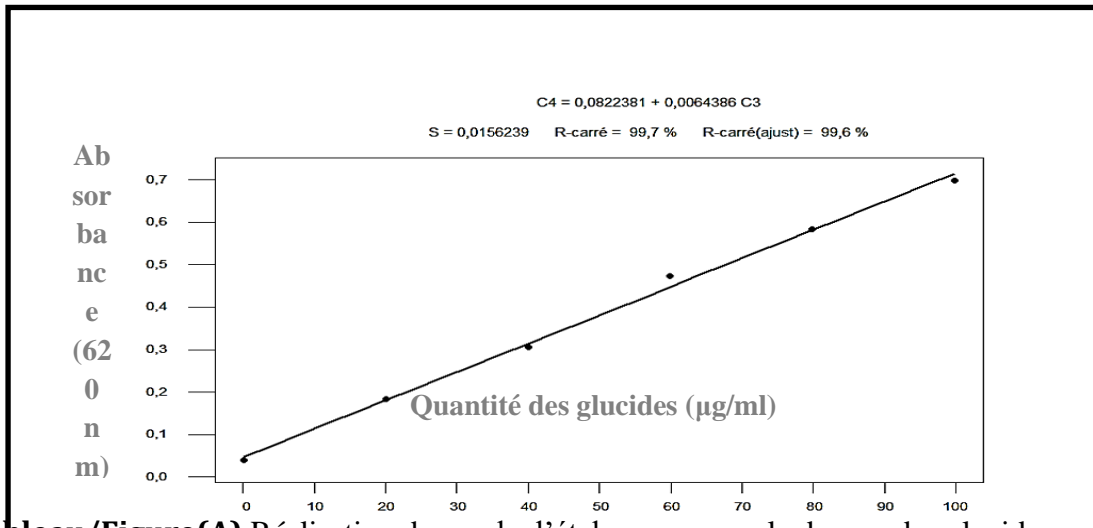
---

# Annexes

---

## 1. Courbe d'étalonnage pour dosage des glucides

| Tubes                        | 1   | 2  | 3  | 4  | 5  | 6   |
|------------------------------|-----|----|----|----|----|-----|
| Solution mère (glucose) (µl) | 0   | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 |
| Eau distillé (µl)            | 100 | 80 | 60 | 40 | 20 | 0   |
| Réactif d'anthrone (ml)      | 4   | 4  | 4  | 4  | 4  | 4   |

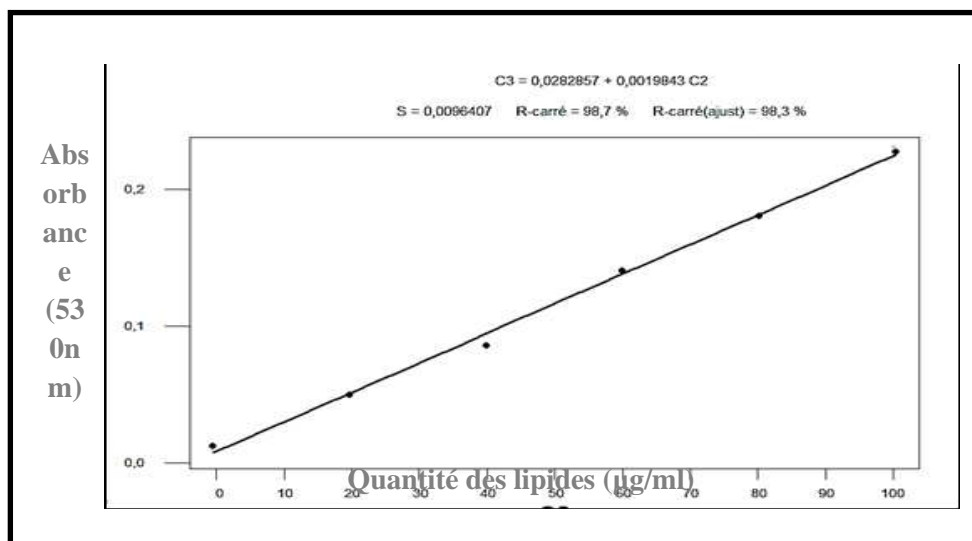


Tableau/Figure(A). Réalisation de courbe d'étalonnage pour le dosage des glucides.

| Tubes                          | 1   | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   |
|--------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Solution mère (lipide) (µl)    | 0   | 20  | 40  | 60  | 80  | 100 |
| Solvant éther/chloroforme (µl) | 100 | 80  | 60  | 40  | 20  | 0   |
| Réactif SPV (ml)               | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 |

2.

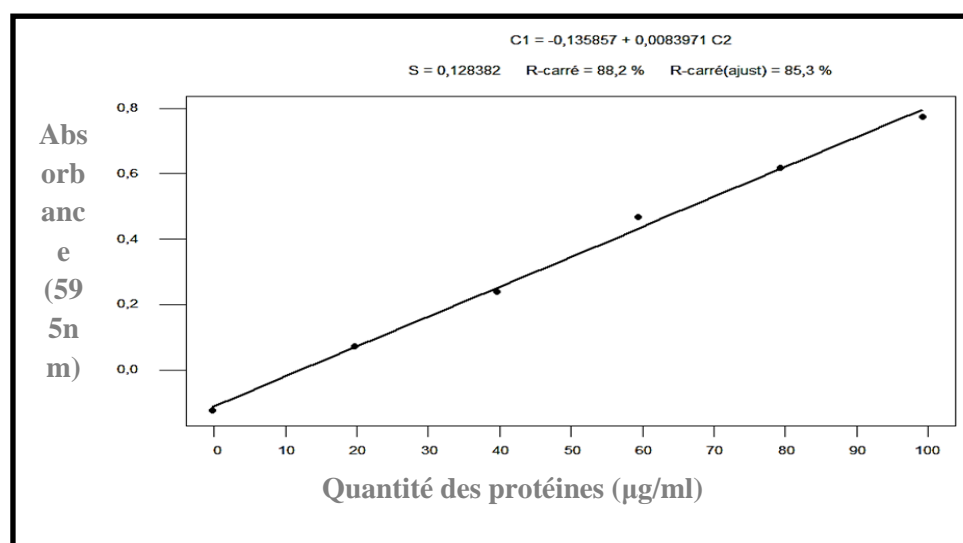
## Courbe d'étalonnage pour dosage des lipides



**Tableau/Figure (B).**Réalisation de courbed'étalonnage pour le dosage des lipides.

| Tubes                             | 1   | 2  | 3  | 4  | 5  | 6   |
|-----------------------------------|-----|----|----|----|----|-----|
| Solution mère de l'Albumine) (µl) | 0   | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 |
| Eau distillé (µl)                 | 100 | 80 | 60 | 40 | 20 | 0   |
| Réactif BBC (ml)                  | 4   | 4  | 4  | 4  | 4  | 4   |

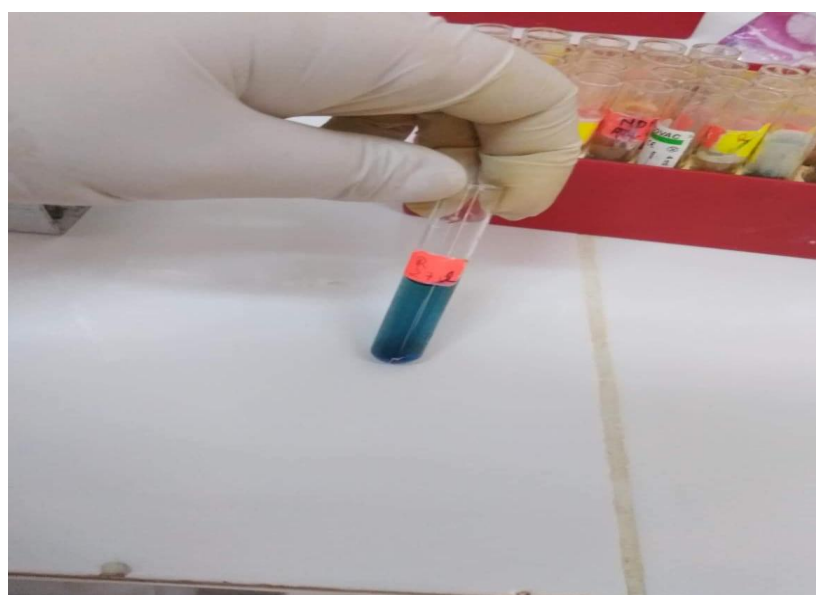
### 3. Courbed'étalonnage pour dosage des protéines



**Tableau/Figure (C).**Réalisation de courbed'étalonnage pour le dosage des protein

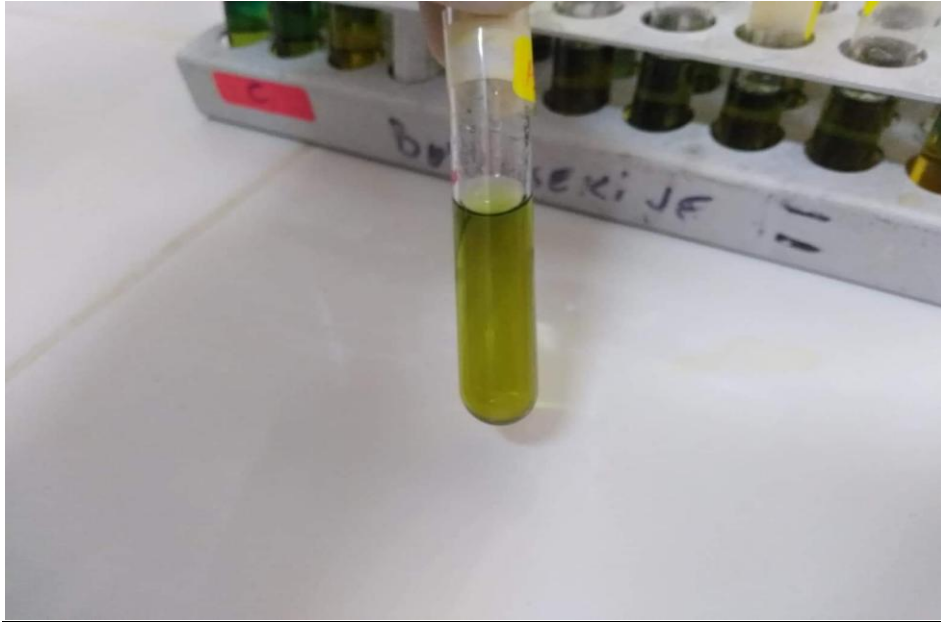
Colorations des paramètres :

Solution de protéine :

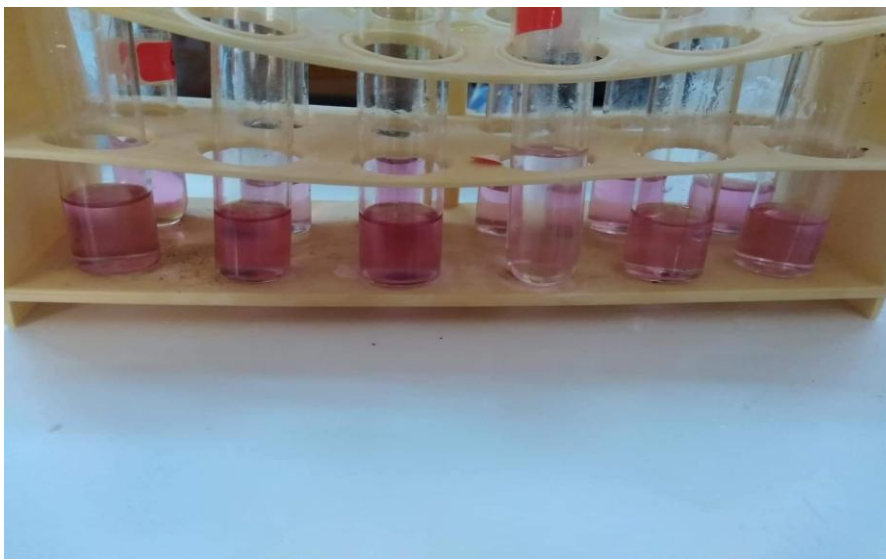


Lipides :





*Glucides :*



*Preparations des solutions :*

