



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



## Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

**Filière** : Sciences biologiques

**Option** : Toxicologie

**Par :**

M<sup>elle</sup>. CHACHOUI Asma, M<sup>elle</sup>. BOUSSAHELA Hanane & M<sup>elle</sup>. MADJOUR Sihem

**Intitulée :**

# Evaluation d'un stress oxydant mitochondrial induit par un pesticide chez les rats *Wistar*

**Devant les jurys :**

GASMI Salim	M.C.B	Université Larbi Tébessi-	Président
ROUABHI Rachid	Pr.	Université Larbi Tébessi	Rapporteur
AMAMRA Rim	M.C.B	Université Larbi Tébessi	Examineur

**Date de Soutenance** : 16/06/2022



## المخلص

كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم السمية العصبية لإيميداكلوبريد نيونيكوتينويد بجرعتين منه (5 و 50 مجم / كجم / يوم) لمدة 40 يومًا على مستوى ميتوكوندريا فئران ويستار

استهدفت تجاربنا عدة مجالات أساسية للتجربة، بدءًا من عمل الإنزيمات الخلوية وموت الخلايا. تنقسم دراستنا إلى عدة مجالات مهمة، منها ودراسات معاملات الإجهاد التأكسدي للميتوكوندريا (mitMDA) ، (mitGST) ، ومعلومات التشكل (نسبة الوزن النسبي للعضو). تقييم معاملات الناقل العصبي (Ache) وتأثيرات (الإيميداكلوبريد) على السلامة الهيكلية والوظيفية للميتوكوندريا (معايير التنفس، نفاذية الغشاء وتورم الميتوكوندريا في الدماغ كله).

تظهر نتائجنا أن إيميداكلوبريد يسبب آثارًا ضارة على الكائن الحي مما يؤدي إلى حدوث تغييرات في توازن الإجهاد التأكسدي الذي يترجم إلى اضطراب في مستويات mitMDA ونشاط mitGST والميتوكوندريا والتنفس والتورم ونفاذية الميتوكوندريا في الدماغ ككل. وأن شدة السمية تزداد مع زيادة الجرعة، وهذا ما بينته النتائج بين الجرعتين (5 و 50 مجم / كجم / يوم)

**الكلمات المفتاحية:** فئران ويستار ، الإجهاد التأكسدي ، مبيدات النيونيكوتينويد ، إيميداكلوبريد ، الميتوكوندريا.

## Abstract

The objective of the present study was to evaluate the neurotoxicity of an Imidacloprid neonicotinoid at two doses (**5 and 50 mg/kg/day**) for **40** days at the mitochondrial level in *Wistar* rats.

Our experiments targeted several basic areas of experimentation, starting with the work of cellular enzymes and cell death. Our study is divided into several principal areas, studies of mitochondrial oxidative stress parameters (**mitMDA, mitGST**), morphology parameters (**relative organ weight %**). Evaluation of neurotransmitter parameters (**AchE**) and the effects of Imidacloprid (IMI) on the structural and functional integrity of mitochondria (**Respiration Parameters, Membrane Permeability and Mitochondrial Swelling in the Whole Brain**).

Our results show that Imidacloprid causes harmful effects on the organism resulting in alterations in the balance of oxidative stress which translates into a disturbance of mitMDA levels, mitGST activity, mitochondrial, respiration, swelling and mitochondrial permeability in the brain as a whole. And that the intensity of toxicity increases with increasing dose, and thesis what the results showed between the two doses 5 and 50 mg/kg/day.

**Key Words:** *Wistar* Rats, Oxidative Stress, Neonicotinoids, Imidacloprid, Mitochondria.

## Résumé

L'objectif de la présente étude était d'évaluer la neurotoxicité d'un néonicotinoïde Imidaclopride à deux doses (**5 et 50 mg/kg/jour**) pendant **40** jours au niveau mitochondrial chez les rats *Wistar*.

Nos expériences ont ciblé plusieurs domaines d'expérimentation de base, à commencer par le travail des enzymes cellulaires jusqu'à la mort cellulaire. Notre étude est divisée en plusieurs axes principales, l'étude des paramètres de stress oxydatif mitochondrial (**mitMDA, mitGST**), paramètres morphologique (**poids relatifs d'organe %**). L'évaluation des paramètres de neurotransmetteurs (**AchE**) et L'effets de l'Imidaclopride (IMI) sur l'intégrité structurale et fonctionnelle des mitochondries (**Les paramètres de respiration, perméabilité membranaire et gonflement mitochondrial dans le cerveau total**).

Nos résultats montrent que L'imidaclopride provoque des effets nocifs sur l'organisme se traduit par des altérations dans le bilan de stress oxydatif qui traduit par une perturbation de taux de mitMDA, l'activité de mitGST, mitochondrial, la respiration, le gonflement et la perméabilité mitochondriale dans le cerveau en globale. Et que l'intensité de toxicité augmente avec l'augmentation de la dose, et c'est ce que les résultats ont montré entre les deux doses 5 et 50 mg/kg/jour.

**Mots clés :** Rats *Wistar*, Stress Oxydant, Néonicotinoïdes, Imidaclopride., Mitochondrie

# *Remerciement*

*Pour commencer, parce qu'il existe toujours un début à tout, nous remercions Dieu, le tout puissant, qui nous a donné la force, la patience, ainsi que le courage pour dépasser toutes les difficultés.*

*Les mots ne seront jamais suffisants pour remercier notre encadrant **Pr. ROUABHI RACHID** pour avoir accepté de nous encadrer, pour toute son aide, sa disponibilité, ses qualités personnelles, et par-dessus tout, pour la confiance qu'il nous a donné tout au long de nos parcours.*

*Nous aimerons aussi remercier le Co- encadreur doctorante **SARRA ZOUAOUI** pour nous aider et conseiller toute la période expérimentale, ainsi que pour sa simplicité, son attention, sa prudence et sa générosité scientifique.*

*Nos vifs remerciements vont également aux **Dr. GASMI SALIM** (le président) et **Dr. AMAMRA RIM** (l'examinatrice) pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Nous remercions le chef de département de la biologie appliquées **Dr. SELLAMI SAIF EDDIN**, et tous les travailleurs de notre université.*

*Merci à tous ceux qui nous ont prêté main-forte et participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.*

*À tous, mille fois merci !*



***Dédicace***

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes parents, Merci à vous, ma mère Radjouia, mon père Ibrahim,  
Qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout au long  
de mes études.*

*Mon cher frère Mouslem, que dieu de protéger.*

*Mes chères sœurs, Samira, Sana, Manar, je vous aime.*

*Mes chères amies, Hanane, Asma, Insaf.*

*Ma nièce Miral.*

*Toute la famille Madjour.*

*Chaque personne qui me donne l'espoir de la vie.*

***Sihem***





*Dédicace*

*Je dédie ce travail ...*

*A mes parents sans lesquels je ne serai pas arrivée jusque-là.*

*A ma chère mère.*

*A mon père, Les mots me manquent pour exprimer ce que vous représentez  
pour moi.*

*A mes chères sœurs, Mayssa, Nadia, Wafa*

*A mes beaux-frères, Walid, Amine.*

*A mes âmes, mes puces, mes chères amies, Asma, Siham, Insaf, Hiba, Fatma,  
Arij, Yousra, Abir, Fatma.*

*Tous simplement je voudrais leurs dire je vous aime de tout mon cœur.*

**Hanane**



***Dédicace***

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes chers parents. Vos sacrifices consentis m'ont permis d'atteindre cette étape de ma vie. Que dieu vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur.*

*Mon frère Oussama, qui m'a accompagné tout au long de mon parcours universitaire.*

*Mes chères sœurs, Fatma Zohra et Salsabil.*

*Ma belle copine, Insaf.*

*Mes chères amies, Hanane, Siham.*

*Toute la famille maternelle et paternelle*

*Tous ceux qui ont participé au développement de ce travail.*



***Asma***

## *Liste des Abréviations*

**AChE** : Acétylcholinestérase  
**ADN** : Acide désoxyribonucléique  
**ADNmt** : Acide désoxyribonucléique mitochondrial  
**ADP** : Adénosine diphosphate  
**ATP** : Adénosine triphosphate  
**BHT** : Hydroxytoluène butylé  
**CAS** : Chemical Abstracts Service  
**CDNB** : Chlorodinitrobenzene  
**CL50** : Concentration létal 50  
**CRM** : Chaîne Respiratoire Mitochondriale  
**DL50** : Dose létal 50  
**ERO** : Espèces radicalaires de l'oxygène  
**FAD** : Flavine Adénine Dinucléotide  
**FMN** : Flavine Mono-Nucléotide  
**HCL** : Hydrogen chloride  
**IMI** : Imidaclopride  
**MET** : Microscopie Électronique à Transmission  
**Na +** : Sodium  
**NaCl** : Chlorure de sodium  
**NAD** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide  
**NADPH** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate  
**PRc** : Poids relatif des cerveaux  
**PTP** : Pore de Transition de Perméabilité  
**SB** : Substance blanche  
**SG** : Substance grise  
**SN** : Système nerveux  
**SNC** : Système nerveux central  
**SNP** : Système nerveux périphérique  
**TBA** : Acide thiobarbiturique  
**TCA** : Acide trichloroacétique  
**TP** : Tompon phosphate

## *Liste des Figures*

N°	Titre	Page
<b>01</b>	Le système nerveux central.	<b>3</b>
<b>02</b>	Les grandes divisions du système nerveux.	<b>3</b>
<b>03</b>	Comparaison d'un cerveau sain et d'un cerveau d'un patient atteint de la maladie d'Alzheimer.	<b>5</b>
<b>04</b>	Représentation schématique d'une mitochondrie	<b>7</b>
<b>05</b>	Structure de la mitochondrie	<b>9</b>
<b>06</b>	Représentation schématique de l'organisation de la chaîne respiratoire mitochondriale humaine	<b>11</b>
<b>07</b>	Schémas représentant un radical libre	<b>13</b>
<b>08</b>	Facteurs initiateurs du stress oxydant	<b>14</b>
<b>09</b>	Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant	<b>15</b>
<b>10</b>	Particularité des atteintes multi-systémiques des maladies mitochondriales	<b>17</b>
<b>11</b>	Action des néonicotinoïdes sur les récepteurs à l'acétylcholine	<b>23</b>
<b>12</b>	Rat male <i>Rattus rattus</i> de la race <i>Wistar</i>	<b>26</b>
<b>13</b>	Conditions d'élevage des rats <i>Rattus rattus</i>	<b>26</b>
<b>14</b>	Pesticides	<b>27</b>
<b>15</b>	Méthode de traitement par voie orale	<b>28</b>
<b>16</b>	Mesure du poids des rats dans laboratoire	<b>28</b>
<b>17</b>	Le sacrifice de rat	<b>29</b>
<b>18</b>	Prélèvement des organes	<b>29</b>
<b>19</b>	Schéma récapitulatif du protocole expérimental	<b>31</b>
<b>20</b>	Evaluation des poids relatifs du cerveau chez les rats témoins et traités par l'Imidaclopride (IMI) après 40 jours de traitement	<b>37</b>
<b>21</b>	Variation du taux de MDA ( $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéine) dans le cerveau total chez les rats témoins et traités après 40 jours.	<b>38</b>
<b>22</b>	Activité enzymatique de GST mitochondriale dans le cerveau chez les rats témoins et traités par l'Imidaclopride (IMI) après 40 jours de traitement	<b>39</b>
<b>23</b>	Activité de l'acétylcholinestérase dans le cerveau total chez les rats témoins et traités par l'Imidaclopride (IMI), après 40 jours de traitement.	<b>40</b>
<b>24</b>	Variation de la respiration mitochondriale dans le cerveau total chez les rats traités durant 40 jours par l'Imidaclopride (IMI)	<b>41</b>
<b>25</b>	L'évaluation du gonflement mitochondriale dans le cerveau total chez les rats traités par l'Imidaclopride (IMI), après 40 jours de traitement	<b>42</b>
<b>26</b>	Variation de la perméabilité membranaire mitochondriale dans le cerveau total chez les rats traités par l'Imidaclopride (IMI), après 40 jours de traitement.	<b>43</b>

## *Liste des Tableaux*

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Noms et structures des trois insecticides néonicotinoïdes testés	<b>22</b>
<b>02</b>	Hydrosolubilité et persistance environnementale des néonicotinoïdes	<b>23</b>
<b>03</b>	Hydrosolubilité et persistance environnementale des néonicotinoïdes chimiques de l'imidaclopride	<b>24</b>

## *Sommaire*

الملخص

Abstract

Résumé

Remerciement

Dédicaces

Liste des Abréviations

Liste des Figures

Liste des Tableaux

## *Partie Bibliographique*

Introduction .....	
I. Système nerveux central .....	3
1. Définition .....	3
2. Structure du système nerveux .....	3
3. Fonction du système nerveux .....	4
II. Le cerveau .....	4
1. Définition .....	4
2. Description macroscopique .....	4
3. Description microscopique .....	4
III. Neurotoxicité .....	5
1. Définition .....	5
2. Les maladies neurodégénératives .....	5
2.1. Définition .....	5
3. La relation entre les pesticides et les maladies neurodégénératives .....	6
4. Les effets neurotoxiques des pesticides .....	6
I. La Mitochondrie .....	7
1. Définition .....	7
2. Origine des mitochondries .....	7
3. Structure de la mitochondrie .....	8
II. Fonctions mitochondriales .....	9
1. Le métabolisme énergétique .....	9
2. La $\beta$ -oxydation .....	9
3. Le cycle de Krebs .....	10
4. La phosphorylation oxydative .....	10
5. L'apoptose .....	11

6.	L'homéostasie calcique .....	11
7.	Les espèces réactives de l'oxygène .....	12
III.	Le Stress oxydant.....	12
1.	Définition.....	12
2.	Origine du stress oxydant .....	12
3.	Un radical libre.....	13
3.1.	Définition.....	13
3.2.	Formation de radicaux libres .....	13
3.3.	Les principaux sites de la production mitochondriale des ERO <sub>s</sub> .....	13
4.	Facteurs influençant le stress oxydatif .....	14
5.	Moyens de lutte contre le stress oxydatif.....	14
1.	Le système antioxydant enzymatique .....	14
2.	Le système antioxydant non enzymatique.....	15
3.	Autre moyen.....	15
IV.	Dysfonctionnements mitochondriaux et pathologies mitochondriales .....	16
1.	Les maladies mitochondriales .....	16
2.	Les syndromes associés aux maladies mitochondriales.....	17
3.	La mitochondrie, une cible de choix des pesticides neurotoxiques .....	18
I.	Généralité.....	19
1.	Définition.....	19
2.	Classification des Pesticides.....	19
2.1.	Premier système de classification.....	19
2.2.	Deuxième système de classification .....	19
3.	L'intérêt de l'utilisation des pesticides .....	20
4.	Toxicocinétique de pesticides.....	20
5.	Effets des pesticides sur la santé.....	20
6.	Toxicité des pesticides .....	21
6.1.	Toxicité aiguë (ou à court terme) .....	21
6.2.	La toxicité chronique.....	21
II.	Néonicotinoïdes .....	21
1.	Généralité (Définition) .....	21
2.	Caractéristiques des néonicotinoïdes .....	22
3.	Mode d'action des néonicotinoïdes .....	23
III.	L'imidaclopride .....	24
1.	Définition.....	24
2.	Les propriétés physico-chimiques de l'imidaclopride .....	24
3.	L'utilisation d'imidaclopride.....	24
4.	Toxicocinétique et mécanismes d'action toxique.....	24
5.	Effets toxicologiques.....	25

5.1. Toxicité aiguë .....	25
5.2. Toxicité chronique.....	25

## *Partie Pratique*

I. Matériel .....	26
1. Matériel biologique et condition d'élevage.....	26
II. Méthodes .....	28
1. Répartition et traitement des rats .....	28
1.1. Lotissement .....	28
1.2. Mesure du poids.....	28
2. Sacrifice et prélèvement d'organes .....	29
3. Estimation du poids relatif du cerveau.....	30
4. Préparation de suspensions mitochondriales .....	32
5. Préparation de la matrice mitochondriale .....	32
6. Evaluation des paramètres de stress oxydatif .....	33
6.1. Biomarqueurs non enzymatiques.....	33
6.1.1. Dosage du Malondialdéhyde (MDA).....	33
6.2. Biomarqueurs enzymatiques .....	34
6.2.1. Dosage de l'activité de glutathion S-Transférase (GST) .....	34
7. Estimation des Neurotransmetteurs .....	35
7.1. Dosage de l'acétylcholinestérase AChE .....	35
8. Etude statistique .....	36
<b>Résultats</b> .....	
1. Effet de l'Imidaclopride (IMI) sur le Poids relatif du cerveau (%) .....	37
2. Effet de l'Imidaclopride (IMI) sur le statut redox mitochondrial dans le.....	38
cerveau total.....	38
2.1. Effet sur le taux de Malondialdéhyde (MDA).....	38
2.2. Effet sur les variations de l'activité GST (Glutathion –S-transférase) .....	39
3. Effet de l'Imidaclopride (IMI) sur les neurotransmetteurs dans le cerveau total .....	40
3.1. Activité de l'acétylcholinestérase dans le cerveau total.....	40
4. Effets de l'Imidaclopride (IMI) sur les paramètres de respiration, perméabilité	
membranaire et gonflement mitochondriales dans le cerveau total .....	41
4.1. Effet de l'Imidaclopride (IMI) sur la respiration mitochondriale dans lecerveau total	41
4.2. Effet de l'Imidaclopride (IMI) sur le gonflement mitochondrial dans le cerveautotal	42
4.3. Effet de l'Imidaclopride (IMI) sur la perméabilité membranaire mitochondriale	
dans le cerveau global .....	43
<b>Discussion</b> .....	44
1. Effet de l'Imidaclopride (IMI) sur le Poids relatif du cerveau (%) .....	44

<b>2. Effet neurotoxique des néonicotinoïdes .....</b>	<b>45</b>
<b>2.1. Effet de l'Imidaclopride (IMI) sur les neurotransmetteurs dans le cerveau total .....</b>	<b>45</b>
<b>2.1.1. Activité de l'acétylcholinestérase dans le cerveau total.....</b>	<b>45</b>
<b>3. Effets des pesticides IMI sur le statut redox mitochondrial dans le cerveau total .....</b>	<b>46</b>
<b>3.1. Effet sur le taux de Malondialdéhyde (MDA).....</b>	<b>46</b>
<b>3.2. Effet sur les variations de l'activité GST (Glutathion –S-transférase)mitochondriale</b>	<b>47</b>
<b>4. Effets des pesticides IMI sur l'intégrité structurale et fonctionnelle des mitochondries ..</b>	<b>47</b>
<b>4.1. Effets de l'Imidaclopride (IMI) sur les paramètres de respiration, perméabilité</b>	
<b>membranaire et gonflement mitochondriales dans le cerveau total .....</b>	<b>47</b>
<b>Conclusion et prescriptive .....</b>	<b>49</b>
<b>bibliographie.....</b>	<b>52</b>
<b>Web graphie.....</b>	<b>56</b>

A decorative frame with intricate scrollwork and floral patterns, surrounding the central text.

# *Introduction*

### Introduction

Les pesticides regroupent plus d'un millier de substances actives ayant comme caractéristique principale de lutter contre des organismes considérés comme nuisibles (animaux, végétaux, champignons) et sont utilisés principalement en milieu agricole. L'exposition aux pesticides peut se produire directement dans le cadre de leur fabrication ou de leurs utilisations professionnelles ou domestiques, mais aussi indirectement par l'air et l'alimentation (**Isabelle et al., 2019**).

L'utilisation intensive des produits phytosanitaires, en particulier les insecticides, provoque des effets indésirables sur les organismes vivants et leur environnement (**Fanny, 2022**). Dans ce travail nous avons choisis l'imidaclopride car il est la nouvelle génération le plus utilisé dans le monde et dans tous les domaines. Malgré que ce pesticide à des effets neurodégénératives, cancérigènes, et tératogènes même à faible concentration.

L'imidaclopride (IMI) est un néonicotinoïde connus pour cibler les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR) chez les insectes, et potentiellement chez les mammifères. il est capable d'induire un stress oxydatif par la génération des radicaux libres (**Benyahia et al., 2021**). Ce dernier un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tels que les maladies neurodégénératives (**Maiche, 2019**) ainsi qu'une perturbation de la structure de régions particulières du cerveau (**Fanny, 2022**).

En effet, le cerveau est le plus grand consommateur d'énergie d'où la production intense des radicaux libres. Cette évidence explique l'importance du cerveau dans le corps, mais aussi sa sensibilité aux xénobiotiques qui affectent globalement les enzymes mitochondriales, les enzymes de détoxification, les neurotransmetteurs ou encore induisent la voie de signalisation apoptotique, la nécrose cellulaire dans le cerveau (**Gasmi, 2018**).

Les travaux effectués dans le cadre de cette thèse ont permis de caractériser chez les rats *Wistar*, Nous avons tenté d'évaluer biochimiquement les conséquences d'une neurotoxicité induite par l'imidaclopride. On évalué le poids relatif, les paramètres du stress oxydatif non enzymatiques (taux de Malondialdéhyde ou MDA) et enzymatiques (activités de glutathion-S-transférase ou GST) au niveau mitochondrial. Ainsi que l'estimation des neurotransmetteurs l'acétyle choline, et enfin en mesurant la respiration et le gonflement mitochondrial.

## INTRODUCTION

- ❖ La première partie de notre travail est une synthèse bibliographique pour répondre à l'objectif de notre étude à travers une analyse des articles était consacrée à la démonstration de l'impact des pesticides. Elle est divisée en trois chapitres :

*Chapitre 01* : la Neurotoxicité

*Chapitre 02* : la Mitochondrie

*Chapitre 03* : les Pesticides

- ❖ La deuxième partie est consacrée à l'étude expérimentale :

Déroule sur la description du matériel et produits utilisés ainsi que les procédures expérimentales pour déterminer l'effet toxique de l'imidaclopride au niveau de mitochondrie du cerveau par l'étude des paramètres de stress oxydatif mitochondriale (mitMDA, mitGST), Paramètres morphologies (Poids relative d'organe %). L'évaluation des paramètres de neurotransmetteurs (AchE) et L'effets de l'Imidaclopride (IMI) sur l'intégrité structurale et fonctionnelle des mitochondries (les paramètres de respiration, perméabilité membranaire et gonflement mitochondriales dans le cerveau total). Qui nous permet de comprendre la réalité toxique de la néonicotinoïde (Imidaclopride).



*Chapitre 01 :*  
*La neurotoxicité*

## I. Système nerveux central

### 1. Définition

Le système nerveux central, constitué par l'encéphale comprenant le cerveau, le tronc cérébral, et le cervelet situés dans la boîte crânienne, et la moelle épinière située dans le canal rachidien. Son rôle est de recevoir, enregistrer, interpréter les signaux qui parviennent de la périphérie, et l'organiser la réponse à envoyer (FIP, 2006).

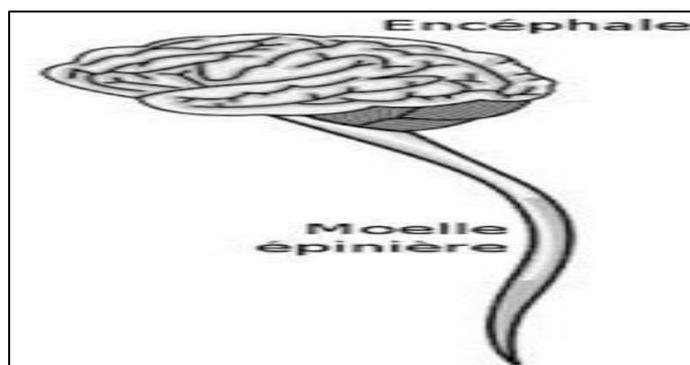


Figure 01 : Le système nerveux central (Mous, 2016).

### 2. Structure du système nerveux

Dans le système nerveux, le système nerveux central et le système nerveux périphérique. Le SNC est constitué, de haut en bas, par l'encéphale (cerveau, tronc cérébral et cervelet) protégé par le crâne et la moelle épinière protégée par la colonne vertébrale. Le SNP est en parfaite continuité avec le SNC (Dridi, 2016), est formé de ganglions et de nerfs périphériques qui irradient de l'encéphale et de la moelle vers tous les points de l'organisme, assurant l'acheminement des informations sensibles vers le SNC et des ordres du SNC vers les effecteurs périphériques (Laouamri, 2020).

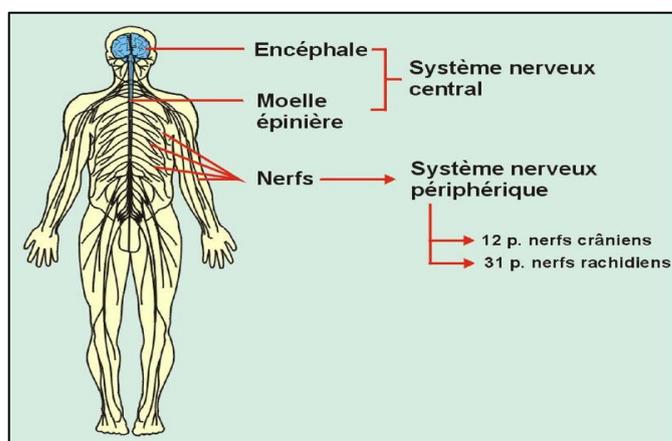


Figure 02 : les grandes divisions du système nerveux (Antoine, 2022).

### 3. Fonction du système nerveux

Le système nerveux (SN) est spécialisé dans la conduction, la transmission et le traitement des informations. Présent dans toutes les régions du corps, il représente un des plus importants moyens de communication de l'organisme (**Jacques, 1978**).

#### I. Le cerveau

##### 1. Définition

Le cerveau humain est un organe impair de forme schématiquement ovoïde à grand axe Antéropostérieur (**Benabdallah, 2016**). Il désigne le tissu qui se trouve à l'intérieure du crâne. Il ne s'agit en fait que d'une partie du SNC (**Bryan et al., 2019**).

##### 2. Description macroscopique

Bien que le cerveau humain représente seulement 2% du poids total du corps humain (**Benguerrah,**). Dont le poids du cerveau varie de 1400 à 1800 gramme le volume moyen est de 1100 cm<sup>3</sup> chez la femme et de 1400 cm<sup>3</sup> chez l'homme. Il occupe la boîte crânienne, mais il n'est pas en contact directe avec la cavité osseuse. Il baigne dans le liquide cérébro-spinal à l'intérieur d'une enceinte liquidienne (**Belarouci et al., 2012**).

Le cerveau est formé de deux hémisphères droit et gauche, incomplètement séparés l'un de l'autre par la scissure inter hémisphérique marquée par la faux du cerveau et réunis l'un à l'autre à leur partie central (**FIP, 2006**). Ces 2 hémisphères sont constitués du cortex (substance grise) et d'une substance blanche. Chaque hémisphère est creusé par des sillons profonds qui délimitent des lobes. (**superprof**).

##### 3. Description microscopique

Le tissu nerveux est composé de 2 types de cellules, les neurones et les cellules gliales (**FIP, 2006**) La façon dont se groupent les différentes parties de ces cellules permettent de distinguer, à tous les niveaux du SNC, la substance grise (SG) et la substance blanche (SB) (**Jacques, 1978**).

Les neurones sont l'unité de travail de base du cerveau. Ils transmettent l'information sous la forme d'un courant électrique, d'un point à un autre du SNC. Ils sont extrêmement nombreux environ 100 milliards par individu.

Les cellules gliales nourrissent, entretient isolent les neurones et communiquent avec eux elles sont 10 fois plus nombreuses que les neurones. Parmi ces cellules on distingue les astrocytes, les oligodendrocytes et les cellules microgliales (**CSNC**).

### II. Neurotoxicité

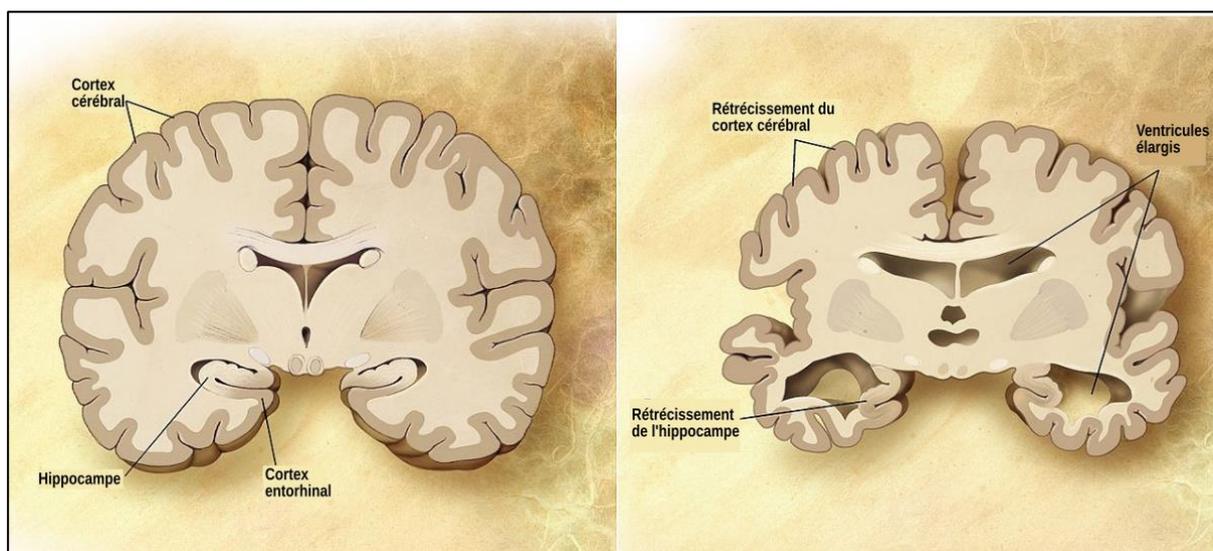
#### 1. Définition

La neurotoxicité développementale est définie comme étant une altération de l'intégrité du système nerveux central, par le changement de sa structure, sa chimie ou ses fonctions suite à l'exposition, durant la période précoce de son développement (prénatal et postnatal), à certains agents toxiques (chimiques, biologiques ou physique). De nombreuses études incriminent des agents toxiques dans l'atteinte, des millions d'enfants, à travers le monde, par les troubles de neurodéveloppement tels l'autisme, le déficit d'attention, l'hyperactivité et la dyslexie (**Dridi, 2016**). Ces troubles semblent affecter 10-15% de toutes les naissances dans le monde (**Bloom et al., 2010**)

#### 2. Les maladies neurodégénératives

##### 2.1. Définition

Les maladies neurodégénératives est caractérisée par une évolution imprévisible, rapide ou longue, défiant toutes les lois du temps (**Dans, AES, 2012**). Ainsi que ce mot est composé du préfixe « neuro- » qui désigne les cellules nerveuses, les neurones, et du radical « dégénérescence » qui renvoie au processus biologique de perte progressive de structures ou de fonctions, affectent le cerveau, la moelle épinière, voire tout le système nerveux. Elles se caractérisent par des lésions consécutives à des mécanismes de dégénérescence encore inconnus. Elles entraînent la mort des cellules nerveuses (**MND, AMT au CEA, 2021**), parmi les MND Alzheimer, la chorée de Huntington, Parkinson.



**Figure 03 :** Comparaison d'un cerveau sain et d'un cerveau d'un patient atteint de la maladie d'Alzheimer (**Garrondo, 2017**).

### 3. La relation entre les pesticides et les maladies neurodégénératives

De récentes études épidémiologiques suggèrent que les pesticides pourraient contribuer au développement de maladies neurodégénératives, comme les maladies de Parkinson et d'Alzheimer. Au sein de la famille des pesticides, les insecticides sont souvent les plus incriminés pour leur caractère neurotoxique. Néanmoins, leurs mécanismes de neurotoxicité et leur impact en santé publique demeurent largement inexplorés (**Barouki, 2013**).

### 4. Les effets neurotoxiques des pesticides

Les effets neurotoxiques peuvent être classés en quatre groupes principaux : Neuropathies ceux qui causent une perte des neurones par apoptose ou nécrose. Axonopathies : ceux qui entraînent une dégénérescence des axones Myélinopathies : ceux qui altèrent la structure de la myéline. Ceux qui affectent la neurotransmission, en interférant avec la libération ou la recapture des neurotransmetteurs, ou en agissant comme agoniste/ antagoniste de récepteurs. La quasi-totalité des insecticides ciblent le système nerveux central des insectes, en agissant comme agonistes des récepteurs de l'acétylcholine (ACh) de type nicotinique, ou comme inhibiteurs des récepteurs de l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique (GABA), en perturbant la transmission synaptique par une action sur les canaux dépendant du sodium et du voltage, ou encore en bloquant l'action de l'acétylcholinestérase (AChE). Ces effets ubiquitaires sont à l'origine de leurs actions sur les récepteurs des mammifères, et expliquent leur nocivité chez l'homme (**Benabdallah et al., 2016**).

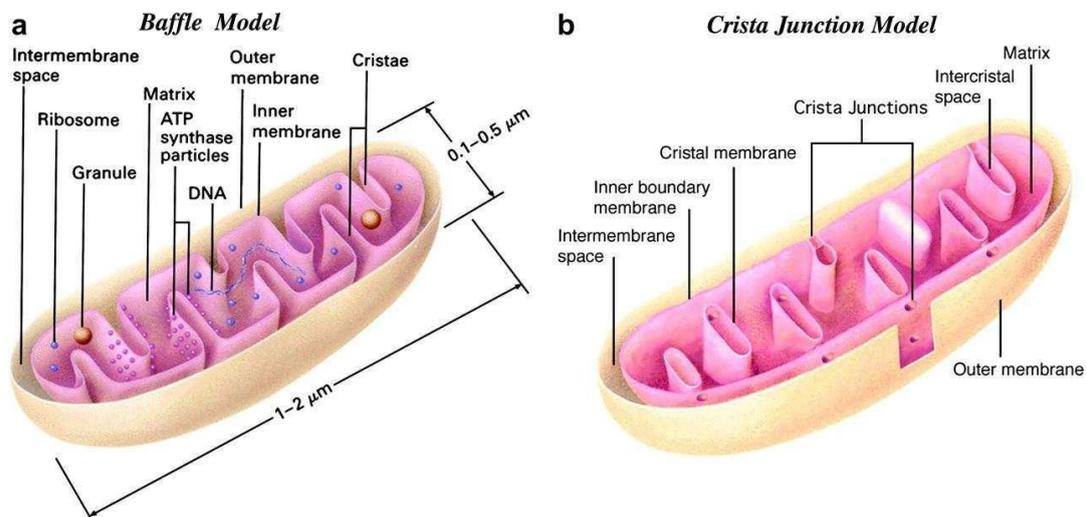


*Chapitre 02 :*  
*La mitochondrie*

## I. La Mitochondrie

### 1. Définition

La mitochondrie est un organe ubiquitaire chez les cellules eucaryotes aérobies engagée dans différentes réactions biochimiques, se trouve dans toutes les types cellulaires sauf les globules rouges (**Rachidi, 2011**). En effet, elle est le siège de la respiration et le lieu de production de l'ATP, servant à tout le métabolisme des êtres vivants. La mitochondrie est un organe semi-autonome qui possède son propre ADN qui permet de coder pour certaines sous-unités des protéines de sa structure et de son fonctionnement, cependant elle est obligée d'importer la plus grande majorité des protéines qui lui sont nécessaires (**Guerrero, 2005**) Chaque cellule contient 1000 à 3000 mitochondries selon les types cellulaires. Elles sont très dynamiques et leur morphologie varie selon les demandes énergétiques de la cellule (**Nunnari et al., 2012**).



**Figure 04 :** Représentation schématique d'une mitochondrie (**Logan et al., 2006**).

- a. Représentation d'une coupe transversale d'une mitochondrie (baffle model) (**Logan et al., 2006**).
- b. Représentation schématique détaillée de la jonction des crêtes mitochondriales (**Logan et al., 2006**).

### 2. Origine des mitochondries

Les premières mitochondries furent observées dans le muscle en 1857 par Rudolph Albert Von Kölliker, un médecin anatomiste Suisse qui publia de nombreux ouvrages entre 1850 et Aujourd'hui, cette théorie est largement acceptée et a été corroborée par certaines caractéristiques bactériennes maintenues chez les mitochondries. 1890 pour décrire les différentes structures cellulaires présentes dans les tissus humains. C'est dans les années 1960 que Lynn Margulis, une microbiologiste américaine, émis l'hypothèse selon laquelle les

mitochondries des cellules eucaryotes actuelles proviendraient de l'incorporation par endocytose incomplète d'une alpha-protéobactérie par une cellule proto-eucaryote anaérobie primitive. Ce phénomène évolutif de symbiose a permis à la cellule hôte d'utiliser l'oxygène pour produire de l'énergie et ainsi de survivre en condition aérobie. ((**Martin et al., 2015**) ; (**Archibald et al., 2015**) ; (**Zimorski et al., 2014**) ; (**Ku et al., 2015**)).

### 3. Structure de la mitochondrie

Décrites pour la première fois par **Kölliker** et **Flemming** dès le XIX<sup>ème</sup> siècle, les mitochondries, organelles cytoplasmiques, apparaissent sous forme de granules ovoïdes plus ou moins allongées avec deux aspects typiques : globulaires (de 0,5 à 1 µm) et filamenteux (jusqu'à 10 µm) de long d'où leur appellation, introduite en 1898, avec les mots grecs *mitos* (filaments) et *chondros* (granules). Présente dans toutes les cellules (exception faite des hématies), la morphologie de la mitochondrie est variable d'un tissu à un autre. Il est admis aujourd'hui que ces organites « polymorphes » possèdent une structure plastique et changent souvent de forme par fusion de deux mitochondries ou fission d'une mitochondrie (**Alberts et al., 2002** ; **Okamoto et al., 2005**).

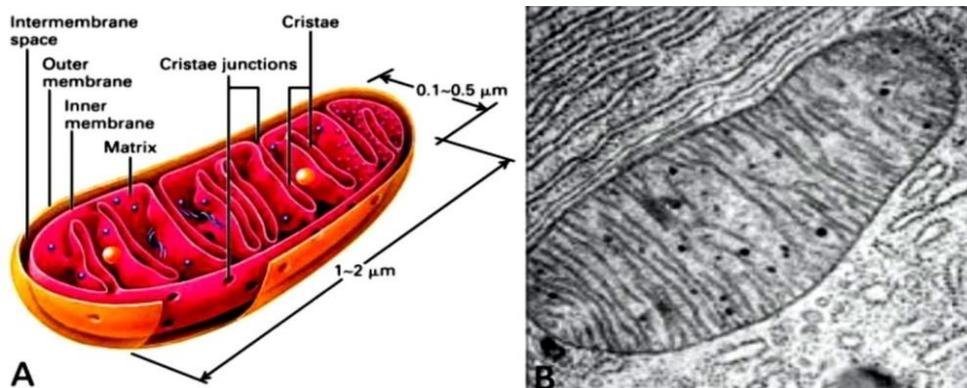
En 1956, **Werkheiser** et **Bartley** postulaient l'hypothèse de l'existence de deux phases aqueuses distinctes, physiquement séparées, à l'intérieur d'une mitochondrie (**Scheffler, 2008**). Ces deux phases sont délimitées par deux membranes de nature et de composition très différentes :

- ❖ Une membrane externe, uniforme (lisse) et continue, d'épaisseur voisine de 7 nm, de composition semblable à celle de la membrane cytoplasmique (60 % de protéines et 40 % de lipides) perméable à de nombreuses molécules de faible Poids Moléculaire (PM) d'une taille inférieure à 5000 Dalton (Da) (**Popov et al., 2005**).
- ❖ Une membrane interne, de composition particulière (80 % de protéines et 20 % de phospholipides). La membrane interne est riche en phosphatidyl-choline et en cardiolipine, ce dernier phospholipide est localisé exclusivement dans la membrane interne des mitochondries des mammifères où il est responsable avec les phosphatidyl-cholines de sa forte imperméabilité. Elle constitue une barrière sélective. Seules certaines petites molécules neutres (O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> et NH<sub>3</sub>) qui peuvent diffuser passivement. La plupart des ions et les molécules utilisent un transporteur spécifique pour traverser cette membrane.

Ces deux membranes délimitent un espace inter-membranaire large de 10 à 20 nm dont la composition est très proche de celle du cytosol. Il contient une forte concentration en protons qui lui confèrent une charge positive (**figure 05**) (**Alberts et al., 2002**).

## CHAPITRE 02 : LA MITOCHONDRIE

La matrice mitochondriale, d'aspect concentré et finement granuleux, contient des mitochondriosomes, des réserves lipoprotéiques, des cristaux protéiques, des cristaux de substances minérales, des molécules d'ADNmt organisées en nucléoïde (Mannella et al., 2006).



**Figure 05 :** Structure de la mitochondrie. (Lodish et al., 2005). (Alberts et al., 2002).

A. Représentation schématique de la mitochondrie (Lodish et al., 2005).

B. Photographie d'une mitochondrie de cellule hépatique humaine prise sous Microscopie Électronique à Transmission (MET) x 20000 (Alberts et al., 2002).

### I. Fonctions mitochondriales

Véritable centrale énergétique de la cellule, la mitochondrie est le siège des voies métaboliques terminales de dégradation des molécules bioénergétiques ( $\beta$ -oxydation des acides gras et cycle de Krebs) et de la phosphorylation oxydative. Elle participe également dans des processus cellulaires clés notamment l'apoptose, l'homéostasie calcique, le métabolisme des acides aminés, la synthèse lipidique et la production d'EROs. La fonction principale de la mitochondrie est la production d'énergie, réalisée via les oxydations phosphorylantes (Scheffler, 2008)

#### 1. Le métabolisme énergétique

La mitochondrie produit l'essentiel de l'ATP cellulaire, principal donneur d'énergie libre dans les systèmes biologiques. L'hydrolyse de l'ATP est très exergonique et peut être couplée à de très nombreuses réactions endergoniques au sein de la cellule. La variation d'enthalpie libre lors de la transformation de l'ATP en ADP vaut  $-51,8$  kJ/mole. L'ATP est pour cette raison une molécule riche en énergie chimique d'hydrolyse, mais qui ne doit pas être considérée pour autant comme une réserve énergétique car la demi-vie de l'ATP est d'environ une minute alors que les besoins quotidiens pour un homme adulte sont estimés à 70 kg ; le taux de renouvellement de cette molécule est très important (Houten et al., 2010).

#### 2. La $\beta$ -oxydation

Les acides gras, stockés dans le tissu adipeux sous forme de triglycérides, sont libérés par l'action de lipases puis activés en acyl-coenzyme A (acyl-CoA) par l'acyl-CoA

synthétase, en présence d'ATP et de coenzyme A. Les acides gras activés doivent ensuite pénétrer dans la matrice mitochondriale pour y être dégradés. Ce transport se fait par simple diffusion pour les acides gras à chaîne courte ou moyenne. Pour les acides gras à longue chaîne, un mécanisme de transport spécifique est nécessaire. Dans la matrice mitochondriale, les acyl-CoA sont dégradés par un cycle récurrent de réactions : la  $\beta$ -oxydation.

La première étape est une oxydation liée au FAD (Flavine Adénine Dinucléotide). Les trois réactions suivantes correspondent à une hydratation, une oxydation liée au NAD (Nicotinamide Adénine Dinucléotide) et une réaction de thiolyse par le groupe thiol d'une molécule de coenzyme A. Cette dernière, catalysée par la  $\beta$ -cétotiolase, libère une molécule d'acétyl-CoA et un acyl-CoA amputé de 2 atomes de carbone. À chaque cycle, la chaîne est réduite de 2 carbones produisant de l'acétyl-CoA qui entre dans le cycle de Krebs ainsi que 2 coenzymes réduits NADH et FADH<sub>2</sub> (**Kompare et al., 2008**).

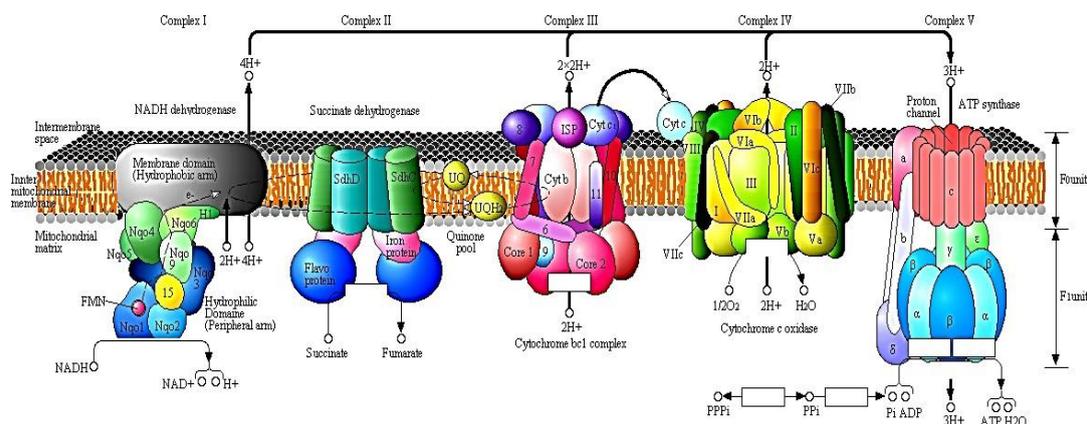
### 3. Le cycle de Krebs

Le cycle de Krebs est la voie terminale d'oxydation des molécules énergétiques (acides aminés, acides gras et glucides). La plupart de ces molécules entrent dans le cycle sous forme d'acétyl-CoA. Les réactions du cycle de Krebs s'effectuent dans la matrice mitochondriale. Les étapes d'oxydation du cycle de Krebs produisent des équivalents réducteurs qui sont acceptés par le NAD et le FAD. Chaque cycle produit ainsi 3 NADH et un FADH<sub>2</sub>. Les coenzymes réduits, NADH et FADH<sub>2</sub>, produits par la  $\beta$ -oxydation et le cycle de Krebs transfèrent ensuite leurs électrons réducteurs à la chaîne respiratoire mitochondriale (CRM) (**Lanza et al., 2010**).

### 4. La phosphorylation oxydative

Le système d'oxydation phosphorylante est composé de 5 complexes enzymatiques localisés dans la membrane mitochondriale interne. Les complexes I à IV constituent la chaîne respiratoire dont la fonction est de transférer les électrons fournis par les coenzymes réduits, NADH et FADH<sub>2</sub> jusqu'à l'oxygène moléculaire en utilisant de multiples centres d'oxydo-réduction : flavines, complexes Fer-Soufre, hèmes ainsi que les ions cuivre. Les électrons fournis par le NADH entrent dans la CRM au niveau du complexe I et ceux fournis par le FADH<sub>2</sub> au niveau du complexe II. Ces quatre complexes enzymatiques sont connectés par des transporteurs mobiles d'électrons : l'ubiquinone qui fait le lien entre les complexes I et II et le complexe III, le cytochrome c qui fait le lien entre le complexe III et le complexe IV. Le transfert des électrons le long de la CRM est couplé à une translocation de protons depuis la matrice mitochondriale vers l'espace inter-membranaire (**Houten et al., 2010**). Le cinquième complexe enzymatique, l'ATP synthase, intervient dans la dissipation du gradient de protons formé précédemment et qui couple le retour des protons vers la matrice mitochondriale à la

synthèse d'ATP à partir d'ADP et de Pi. L'oxygène, accepteur final d'électrons, est alors réduit en eau (**figure 06**) (**Gnaiger et al., 2003**).



**Figure 06 :** Représentation schématique de l'organisation de la chaîne respiratoire mitochondriale humaine (**Gabaldon et Huynen, 2005**).

### 5. L'apoptose

L'apoptose est un processus de mort cellulaire actif génétiquement programmé dont il existe deux voies distinctes : la voie extrinsèque (nommée aussi voie des récepteurs de mort) et la voie intrinsèque (dite mitochondriale). Cette voie consiste en la perméabilisation de la membrane externemitochondriale qui mène à la libération dans le cytosol de molécules situées initialement dans l'espace inter-membranaire, capables d'initier et de réguler l'activation des caspases susceptibles de déclencher plusieurs substrats cellulaires (**Wang et al., 2009**).

Deux mécanismes de perméabilisation de la membrane externe sont proposés. Le premier consiste en l'ouverture d'un canal, le pore de Transition de Perméabilité (PTP) qui permet la dilatation de la matrice et la rupture de la membrane externe. Le second implique la formation d'un pore au niveau de la membrane externe par des protéines pro-apoptotiques de la famille de Bcl-2 (Bax et Bak) (**Grimm et al., 2007**). La création de ces pores conduit à la libération de différents facteurs pro-apoptotiques dont le cytochrome c et l'endonucléase G. Une fois libérées, ces protéines transloquées au niveau du noyau vont participer à la condensation et à la fragmentation de la chromatine (**Riedl et al., 2007**).

### 6. L'homéostasie calcique

La régulation calcique fait intervenir des phénomènes d'extrusion et de séquestration du calcium via des canaux au niveau de la membrane plasmique, du réticulum endoplasmique et de la mitochondrie (**Kann et al., 2007 ; Baughman et al., 2011**).

Le calcium localisé dans la matrice, régule les fonctions mitochondriales en participant à la production d'ATP, au contrôle redox et à l'apoptose. Des élévations de la concentration calcique mitochondriale stimule l'activité des déshydrogénases du cycle de Krebs et celle des

complexes IV et V de la chaîne respiratoire. L'entrée du calcium du cytosol vers la mitochondrie nécessite un potentiel de la membrane mitochondriale élevé (**Brookes et al., 2004**).

La sortie du calcium de la mitochondrie se fait probablement par l'antiport  $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$  NCLX/NCX et par le pore de transition membranaire dont l'ouverture est réalisée dans des conditions apoptotiques (**Palty et al., 2010**).

### 7. Les espèces réactives de l'oxygène

La mitochondrie est le site majeur de production cellulaire des EROs qui peuvent être des radicaux libres ou des molécules comme l'anion superoxyde ( $\text{O}_2^-$ ) ou l'oxyde nitrique. Ces radicaux libres peuvent diffuser dans le cytoplasme et à travers les membranes, pour aller altérer des composants cellulaires éloignés de leur site de production ou encore pour atteindre d'autres cellules. De plus, l'attaque des composants cellulaires organiques engendre la transmission d'une cascade radicalaire, soit à l'intérieur d'une même molécule, soit à l'intérieur d'un même tissu en agissant d'une molécule à une autre. En absence d'équipement antioxydant tissulaire efficace, le phénomène de dégradation connaît une progression rapide, qui, après interaction avec les autres systèmes tissulaires, devient très vite exponentielle (**Turrens et al., 2003**).

## III. Le Stress oxydant

### 1. Définition

Le stress oxydant se définit par un déséquilibre entre la production d'espèces radicalaires (ou réactives) de l'oxygène (ERO) et les capacités cellulaires antioxydantes. Les ERO ont longtemps été considérées comme des sous-produits toxiques du métabolisme normal de l'oxygène et impliquées dans de nombreuses pathologies (**Med Sci, 2011**).

### 2. Origine du stress oxydant

La découverte d'espèces chimiques radicalaires présentes normalement dans l'organisme a bouleversé notre compréhension des mécanismes biologiques. Ces radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable (**Alain, 2003**). Trois principales familles d'oxydants sont actuellement connues et à l'origine de nombreux effets biologiques. Il s'agit des formes réactives de l'oxygène (FRO), des oxydants chlorés et enfin des formes réactives de l'azote (FRN) (**Morena et al., 2002**). Mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé stress oxydant (**Alain, 2003**).

### 3. Un radical libre

#### 3.1. Définition

Les radicaux libres sont des espèces chimiques, paramagnétiques, éventuellement peu stables, caractérisées par un ou plusieurs électrons non appariés ou célibataires sur leur orbitale externe (Ziadane, 2019). Leur durée de vie est de l'ordre du millionième de seconde, les radicaux libres cherchent à retrouver une stabilité en attirant les électrons de particules voisines, transformant celles-ci en radicaux libres à leur tour dans une réaction en chaîne. (Philippe, 2010).

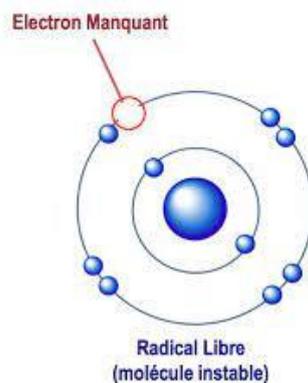


Figure 07 : schémas représentant un radical libre ( Hébé, 2017).

#### 3.2. Formation de radicaux libres

Au niveau de la respiration mitochondriale, l'inhibition du transfert d'électron par découplage de la phosphorylation oxydative entraîne une modification du potentiel REDOX favorisant l'auto-oxydation des biomolécules et la génération des ERO. (Bensakhria, 2018)

#### 3.3. Les principaux sites de la production mitochondriale des EROs

Deux sites principaux sont responsables de la production mitochondriale des EROs : le complexe I et le complexe III de la chaîne respiratoire (Turrens et al., 2003).

##### ❖ Le complexe I

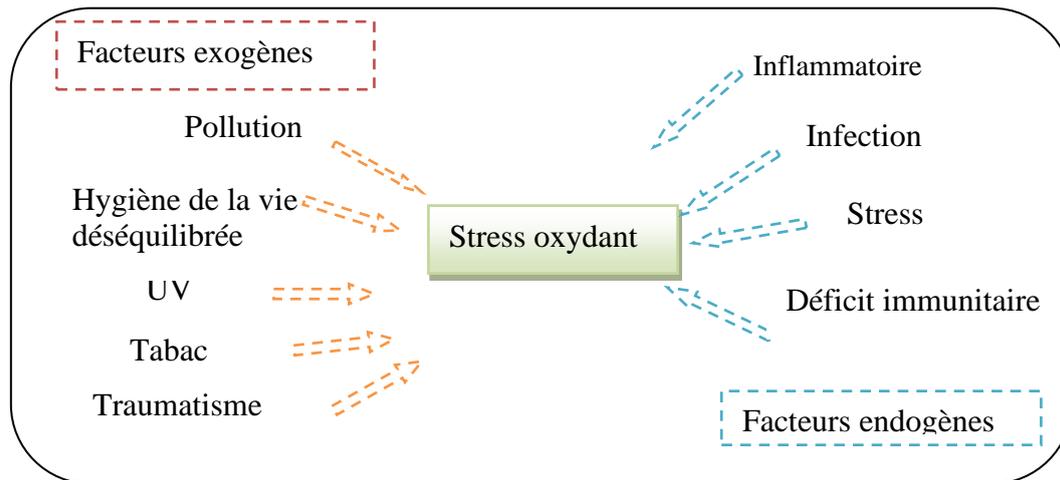
La production de l'anion superoxyde au niveau du complexe I serait due à l'addition directe d'un électron à l'oxygène par l'un des 7 centres Fe-S qui composent ce complexe ou de manière indirecte à la réduction de quinones externes. Ces quinones alors sous la forme semi-quinone sont très instables et peuvent réduire l'oxygène en  $O_2^-$ . Le groupement Flavine Mono-Nucléotide (FMN) serait également capable de générer l'anion superoxyde. Le complexe I contrôle majoritairement la respiration et la production d'ATP. Ainsi, de nombreuses maladies qui présentent un défaut de phosphorylation oxydative lié à ce complexe sont dues à une mort cellulaire par une production trop importante des EROs et à une diminution des capacités respiratoires dans ces tissus. En outre, des mutations de ce complexe, décrites dans plusieurs maladies neurodégénératives, sont responsables d'altérations du développement

cérébral et sont impliquées dans des encéphalopathies par une mort neuronale qui survient dans les cerveaux de ces patients (Nishioka *et al.*, 2010).

❖ **Le complexe III**

Le complexe III est quant à lui, responsable de la production d'O<sub>2</sub> par l'intermédiaire du coenzyme Q sous sa forme ubi-semi-quinone. Certains travaux ont récemment révélé que des EROs pouvaient également être générées à partir du complexe II (Gleason *et al.*, 2011).

**4. Facteurs influençant le stress oxydatif**



**Figure 08 :** facteurs initiateurs du stress oxydant (Joris, 2015).

**5. Moyens de lutte contre le stress oxydatif**

Les systèmes de défense de l'organisme contre l'activité des ERO, sont multiples et complexes et comprennent soit des systèmes de prévention qui empêchent la formation des ERO soit des systèmes de réparation ou d'élimination des cibles biologiques endommagées (Michel, 2012).

On peut distinguer deux types du système antioxydant :

**1. Le système antioxydant enzymatique**

Les principaux systèmes enzymatiques antioxydants sont :

**1.1.Superoxyde dismutase**

Les superoxydes dismutases (SOD) sont une classe de métallo enzyme (Ibtissem, 2016). Le rôle majeur du SOD est de catalyser la dismutation des ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire (Delattre *et al.*, 2005).

**1.2.La catalase**

C'est une enzyme que l'on retrouve principalement au sein des peroxysomes, dans les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales (Thomas, 2016), ce dernier capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Delattre *et al.*, 2005). Elle se retrouve dans les liquides extracellulaires ainsi que dans les cellules, au sein du cytosol et des mitochondries (Thomas, 2016).

### 1.3. Glutathion peroxydase

L'activité du glutathion peroxydase, ou GPx, est de détoxifier le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes d'origine lipidique en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur (Delattre et al, 2005).

### 1.4. La glutathion S-transférase (GST)

La glutathion S-transférase joue un rôle central dans la détoxification des ROS par le GSH avec transport intermembranaire, de liaison et de détoxification des cellules avec la GR et la GPX. Donc elle permet le transport du GSH vers les compartiments cellulaires subissant des dommages oxydatifs (Philippe, 2013).

## 2. Le système antioxydant non enzymatique

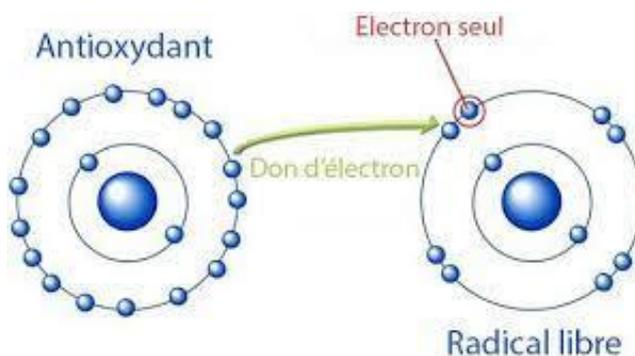
Les principaux systèmes non enzymatiques sont :

### 2.1. Le glutathion

Le glutathion est un tripeptide constitué d'acide glutamique, de cystéine et de glycine ( $\gamma$ -L-Glutamyl-L-cystéinyglycine). Le groupement amine de la cystéine est lié à la fonction acide en  $\gamma$  de l'acide glutamique. La fonction thiol de la cystéine porte les principales propriétés de ce peptide (Thomas, 2016), il représente une composante antioxydante importante, car c'est le substrat de plusieurs enzymes antioxydantes (Halliwell et al., 1999). Il peut se retrouver la forme réduite (GSH) ou sous forme oxydé (GSSG).

## 3. Autre moyen

la lutte contre le stress oxydant représente une des priorités des chercheurs au cours de ces dernières années (Azouaou), Les substances antioxydantes les caroténoïdes comme le  $\beta$ -carotène, le lycopène et la lutéine, l'acide ascorbique, les tocophérols, les flavonoïdes, les extraits de thé vert, de baie de myrtille et de raisins présentent des effets synergiques efficaces pour lutter contre le stress oxydant et ses effets délétères nous protégeant du vieillissement accéléré des nombreuses pathologies dégénératives liées à l'âge et de la composante oxydative des pathologies aiguës ( Burgos, 2022).



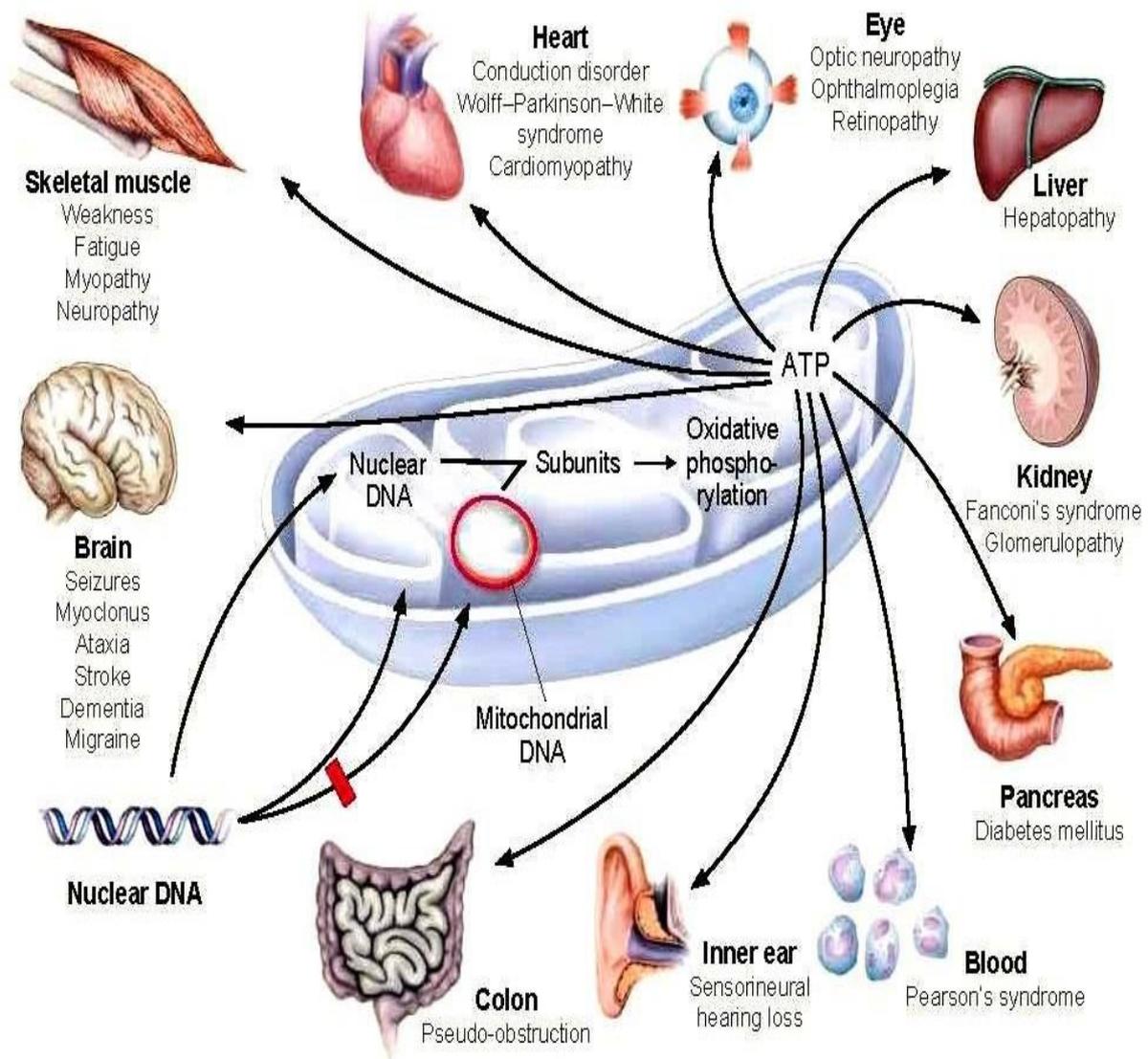
**Figure 09** : Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant (Hocine et al., 2017).

### III. Dysfonctionnements mitochondriaux et pathologies mitochondriales

#### 1. Les maladies mitochondriales

Les maladies mitochondriales, mitochondriopathies ou cytopathies mitochondriales, rassemblent un groupe hétérogène de pathologies métaboliques avec pour seul dénominateur commun un déficit de la phosphorylation oxydative qui provoque, par accumulation d'équivalents réduits (NADH, FADH<sub>2</sub>), une modification profonde des équilibres d'oxydo-réduction cytoplasmiques et mitochondriaux. Ces anomalies peuvent être causées par des mutations, acquises ou héritées, dans la molécule d'ADNmt ou dans les gènes nucléaires codant pour le protéome mitochondrial. Outre le déficit énergétique, la surproduction d'EROs, les déséquilibres redox et une susceptibilité accrue à l'apoptose pourraient participer à la physiopathologie de ces cytopathies (**Dimauro, 2004 ; Zeviani et Carelli, 2007**).

Le premier cas de mitochondriopathie a été décrit en 1962 chez une patiente souffrant d'une dérégulation sévère du métabolisme et possédant des mitochondries avec un aspect anormal (**Luft *et al.*, 1962**). Depuis, leur nombre n'a cessé d'augmenter. Malgré leur multiplicité, les maladies mitochondriales font toutefois partie de la classe des maladies dites « rares



**Figure 10** : Particularité des atteintes multi-systémiques des maladies mitochondriales (Johns ,1995).

## 2. Les syndromes associés aux maladies mitochondriales

Les syndromes associés aux maladies mitochondriales décrites dans la littérature sont le résultat du recensement d'un certain nombre de symptômes observés chez la plupart des patients, et souvent accompagnés de manifestations cliniques facultatives. Leur classification est rendue difficile car elle peut se faire sur la base de différentes caractéristiques (manifestations cliniques, type de mutation et mode de transmission). Celle proposée ci-dessous repose en premier sur l'origine mitochondriale ou nucléaire des mutations. Cependant, il convient de préciser qu'un même syndrome pourra être retrouvé dans les deux classes et que des mutations d'origine différente peuvent engendrer des symptômes similaires (Thorburn *et al.*, 2004).

### 3. La mitochondrie, une cible de choix des pesticides neurotoxiques

Le métabolisme énergétique et la dynamique mitochondriale sont fréquemment affectés dans les maladies neurodégénératives. Le rôle crucial des mitochondries dans la physiologie neuronale en fait l'une des principales cibles des insecticides. Plusieurs hypothèses suggèrent que les pesticides pourraient pénétrer dans les cellules directement au travers de la membrane ou grâce à des mécanismes de transport. Ainsi, ils pourraient agir directement sur l'équilibre NADH/ NAD<sup>+</sup> en augmentant les espèces réactives oxygénées qui perturberaient le fonctionnement mitochondrial. Mais ils pourraient également agir directement sur le complexe I de la chaîne respiratoire entraînant une augmentation des ERO, une induction des mécanismes apoptotiques par une libération du cytochrome c et une activation des caspases, une altération de l'ADN nucléaire, ainsi qu'une oxydation et une agrégation des protéines, telles que l' $\alpha$ -synucléine ( **Steeve et al., 2013**).

A decorative black and white frame with intricate scrollwork and floral patterns, surrounding the central text.

*Les pesticides*

### I. Généralité

#### 1. Définition

Le terme pesticide dérivé du mot anglais pest (ravageur), désigne toutes les substances naturelles ou synthétiques (ANES, 2010), qui peuvent contrôler, attirer, repousser, tuer ou arrêter le développement des organismes vivants (microbes, animaux ou végétaux) considérés comme nuisibles aux développements des productions agricoles, à l'hygiène ou à la santé publique (les cafards dans les habitations et les insectes parasites comme les poux) et à la santé vétérinaire (Damalas *et al.*, 2011).

#### 2. Classification des Pesticides

En général les substances actives sont classées (Barriusso *et al.*, 2005) en fonction de :

- ❖ La nature de l'espèce à combattre (premier système de classification),
- ❖ La nature chimique de la principale substance active (deuxième système de classification).

##### 2.1. Premier système de classification

Il repose sur le type de parasites à contrôler. Il existe principalement trois grandes familles d'activités (Mrabet, 2006) :

##### ❖ Les Herbicides :

Ce sont les plus utilisés dans le monde en tonnage et en surface ; ils permettent d'éliminer les mauvaises herbes des cultures.

##### ❖ Les Insecticides :

Ce sont les premiers pesticides utilisés et les plus utilisés en Algérie. Ils sont destinés à détruire les insectes nuisibles.

##### ❖ Les Fongicides :

Ils permettent de lutter contre les maladies cryptogamiques qui causent de graves dommages aux végétaux cultivés. Ils combattent la prolifération des champignons pathogènes (Margoum, 2010).

Outre, ces trois grandes familles, d'autres peuvent être citées en exemple les taupicides, les acaricides, les rodenticides.

##### 2.2. Deuxième système de classification

Le classement se fait en fonction de la nature chimique de la substance active. On distingue les Pesticides Organiques, Organochlorés, Organophosphorés, Carbamates, Triazines, urées substituées, pyréthrénoïdes.

### ❖ Les Pesticides Inorganiques :

En général ce sont des éléments chimiques qui ne se dégradent pas. Leur utilisation entraîne souvent de graves effets toxicologiques sur l'environnement par accumulation dans les sols. Le plomb, l'arsenic et le mercure sont fort toxiques (**Boland, et al.,2004**).

### ❖ Les Biopesticides :

Ce sont des substances dérivées de plantes ou d'animaux. Elles peuvent être constituées d'organismes tels que les moisissures, les bactéries, les virus, les nématodes, les composés chimiques dérivés de plantes et phéromones d'insectes.

La présence de certains groupements fonctionnels et/ou atomes confère aux pesticides certaines propriétés physico-chimiques (ionisabilité, hydrophobie, solubilité, persistance).

### 3. L'intérêt de l'utilisation des pesticides

Dans l'agriculture les pesticides sont utilisés pour lutter contre les insectes, les parasites, les champignons et les herbes estimés nuisibles à la production et à la conservation de cultures et produits agricoles ainsi que pour le traitement des locaux (**Mokhtari, 2012**).

Dans l'industrie ; en vue de la conservation de produits en cours de fabrication (textiles, papiers), vis-à-vis des moisissures dans les circuits de refroidissement, vis-à-vis des algues et pour la désinfection des locaux (**Zeboudji, 2005**).

Dans les Constructions, pour protéger le bois et les matériaux.

En Médecine : Paludisme, malaria, typhus, et autres épidémies (**Zeboudji,2005**).

### 4. Toxicocinétique de pesticides

La contamination de l'homme par les pesticides peut se faire par différentes voies. Il peut les absorber via les aliments et l'eau ou par contact avec la peau ou encore par inhalation. Certains produits qui présentent une toxicité aiguë importante peuvent être éliminés facilement par l'organisme (**Lidth, 2004**).

A l'inverse, d'autres substances de toxicité moindre sont susceptibles de s'accumuler dans l'organisme et d'induire des effets à plus long terme qui sont difficilement quantifiables. Par ailleurs ces produits sont transformés parallèlement en différents métabolites susceptibles d'engendrer d'autres répercussions sur l'organisme humain (**Boland et al., 2004**).

### 5. Effets des pesticides sur la santé

Les préoccupations de l'exposition aux pesticides sur la santé sont liées aux intoxications aiguës et chroniques, autant pour la population générale

Une exposition aiguë aux pesticides peut engendrer des symptômes non spécifiques tels que des céphalées, des nausées, des vomissements et peut aussi entraîner des décès

(**Boland, 2005**).

Les associations entre l'exposition chronique aux pesticides et certains problèmes de santé (ex. : effets neurologiques, tératogènes, cancérigènes, sur la reproduction et sur le développement de l'enfant) sont plus ou moins robustes et fiables, notamment en raison des limites méthodologiques de ces études, particulièrement en ce qui a trait à la caractérisation de l'exposition (**Mrabet, 2006 et Calvet,2005**) Néanmoins, certaines données scientifiques tendent à démontrer qu'une exposition chronique aux pesticides, davantage observée en milieu de travail, pourrait mener au développement de cancer de la prostate, de myélome multiple, de lymphomes non hodgkiniens et de la maladie de Parkinson (**Barriusso,2005**).

Les effets des pesticides sur la santé peuvent varier, entre autres, selon la formulation (ex. poudre ou liquide), les propriétés toxicologiques des matières actives, leur interaction, le mode et les conditions d'application, les voies d'exposition, la nature des adjuvants et des autres produits dans la préparation commerciale (**Kim et al., 2017 ; Mesnage, 2018**).

### **6. Toxicité des pesticides**

#### **6.1.Toxicité aiguë (ou à court terme)**

Elle se manifeste généralement immédiatement ou peu de temps (quelques minutes, heures ou jours) après une exposition unique ou de courte durée à un pesticide. (**Mokhtari, 2012**). Les cas d'intoxication aiguë par les pesticides représentent une morbidité et une mortalité conséquentes dans l'ensemble du monde. Les pays en développement sont particulièrement vulnérables en raison d'un manque de réglementation, de systèmes de surveillance, d'application des règles et de formation et d'une insuffisance de l'accès aux systèmes d'information. Des études antérieures ont mis en évidence une grande variabilité des taux d'incidence de ces intoxications aiguës (**Simpson, 2002**).

#### **6.2.La toxicité chronique**

Survient normalement suite à l'absorption répétée de faibles doses de pesticides. Le délai avant l'apparition de symptômes ou d'une maladie peut être très long. Dans certains cas, il peut être de plusieurs années. Les effets chroniques des pesticides sur la santé sont typiquement le cancer. D'autres effets ont été observés chez les mammifères tels que la perturbation du développement du fœtus et le dérèglement des systèmes reproducteurs, endocriniens, immunitaires et/ou nerveux central (**INSPQ, 2007**).

## **II. Néonicotinoïdes**

### **1. Généralité (Définition)**

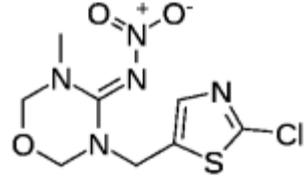
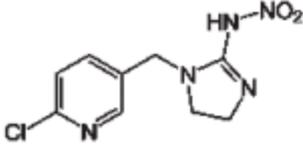
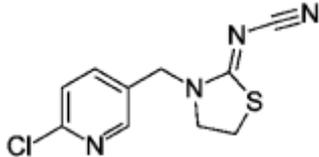
Les néonicotinoïdes sont des analogues synthétiques de la nicotine, alcaloïde naturel extrait des feuilles de tabac, utilisée depuis des siècles comme insecticide (**Jeschke, 2011 ;Seifert,2005**). Ils sont des insecticides de synthèse dont la structure moléculaire et le mode d'action sont

## CHAPITRE 03 : LES PESTICIDES

similaires à la nicotine, un composé végétal naturel largement utilisé comme insecticide avant la Seconde Guerre mondiale (**Hopwood et al., 2012**). Les néonicotinoïdes sont la nouvelle classe majeure d'insecticides utilisés dans le monde pour la protection des cultures et comme traitements pour les soins animaux (**Honda et al., 2006**).

Les néonicotinoïdes les plus couramment utilisés sont : le thiaclopride, l'imidaclopride, le thiaméthoxame. Selon les registres de 2012, 261 000 kg de néonicotinoïdes actifs ont été appliqués sur 11 millions d'hectares de terrains au Canada. Ils sont utilisés comme enrobage de graines pour les cultures de fruits et légumes variées (Elbert et al., 2008; Main et al., 2014). Dû aux enrobages, les demi-vies de ces pesticides peuvent se rendre jusqu'à 1250 jours.

**Tableau 01** : Noms et structures des trois insecticides néonicotinoïdes testés (**Rachel, 2018**).

Pesticides (Numéro CAS)	Noms détaillés	Structures chimiques
Thiaméthoxame (153719-23-4)	3-[(2-Chloro-1,3-thiazol-5-yl)méthyl]-5-méthyl-N-nitro-1,3,5-oxadiazinan-4-imin	
Imidaclopride (138261-41-3)	N-{1-[(6-Chloro-3-pyridyl)méthyl]-4,5-dihydroimidazol-2-yl}nitramide	
Thiaclopride (111988-49-9)	{(2Z)-3-[(6-Chloropyridin-3-yl)méthyl]-1,3-thiazolidin-2-ylidene}cyanamide	

### 2. Caractéristiques des néonicotinoïdes

Plusieurs caractéristiques de ces nouveaux insecticides ont contribué à ce phénomène. Premièrement, le caractère hydrosoluble de ces substances favorise leur translocation dans l'ensemble des tissus végétaux, ce qui assure la protection de toutes les parties des plantes traitées (**Simon-Delso, et al., 2015**).

Deuxièmement, leur demi-vie dans le sol et les tissus végétaux leur confère une certaine persistance environnementale, ce qui permet de réduire la fréquence des interventions (**Bonmatin, J.-M., et coll. 2015**).

Troisièmement, la diversité des traitements offerts sur le marché permet une grande souplesse d'utilisation. En particulier, les enrobages de semences ont souvent été considérés comme un

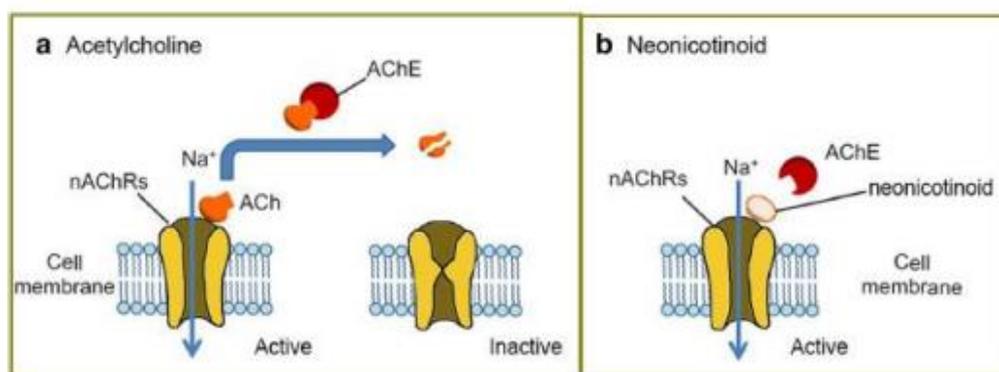
moyen plus sécuritaire de protéger les cultures, car ils nécessitent des quantités d'ingrédients actifs moindres que les applications par pulvérisation (Jeschke, et al., 2011).

**Tableau 02 :** Hydrosolubilité et persistance environnementale des néonicotinoïdes (Nicolas, 2018).

Ingrédient actif	Hydrosolubilité (mg/l)	Demi-vie, sols aérobie ( j)	Demi-vie, tissus végétaux ( j)a
Thiaméthoxame	4100	121	4,4
Imidaclopride	610	191	4,9
Thiaclopride	184	18	3,8

### 3. Mode d'action des néonicotinoïdes

Les insecticides néonicotinoïdes, de même que certains de leurs métabolites, possèdent une signature moléculaire similaire à un neurotransmetteur naturel très important du système nerveux (Tomizawa, 2013 ; Jeschke et al., 2013). Ils sont agonistes des récepteurs à l'acétylcholine appelés récepteurs cholinergiques. Deux types sont décrits, le principal nicotinique qu'on appellera neuronal et l'autre non neuronal. Ces agonistes se lient plus fort au récepteur, ils sont en compétition avec l'acétylcholine. Cependant il y aura une persistance de l'effet des néonicotinoïdes car ils ne seront pas dégradés par l'acétylcholine esterase. Ce qui engendrera une surstimulation et mort éventuelle des neurones pour les récepteurs neuronaux. (Buszewski et al., 2019)



**Figure 11 :** Action des néonicotinoïdes sur les récepteurs à l'acétylcholine (Blottière et al., 2019).

### **III. L'imidaclopride**

#### **1. Définition**

L'imidaclopride ou 1-[(6-chlore-3-pyridinyl)méthyl]-4,5-Dihydro-N-nitro,1Himidazol-2-amine (Toudert, 2010), est un néonicotinoïde agissant sur le système nerveux central par le biais des récepteurs post-synaptiques. Il cible les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChR) provoquant une accumulation de ce neurotransmetteur (Bai et al., 1991 ; Yamamoto et al., 1995). Ceci conduit à des tremblements musculaires, à une incoordination motrice, à la paralysie puis à la mort de l'insecte à brève échéance (Buckingham et al., 1997).

#### **2. Les propriétés physico-chimiques de l'imidaclopride**

L'imidaclopride est un pesticide soluble dans l'eau (tableau 06) et possédant un faible potentiel de volatilisation (pression de vapeur égale à  $4 \times 10^{-7}$  mPa). L'imidaclopride est un pesticide stable à l'hydrolyse avec une durée de demi vie ( $t_{1/2}$ ) supérieure à 30 jours dans une eau à Ph = 7 (159.)

**Tableau 03 : Les propriétés physico-chimiques de l'imidaclopride( 158)**

Nom chimique	(E)-1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine
Formule chimique	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>5</sub> O
Masse molaire ( g/mol)	255.7
Solubilité dans l'eau	( mg /L-1) à 20°C : 610
Point de fusion ( °C )	144
Log Kow	0.57
Pression de vapeur à 20°C (mPa)	$4 \times 10^{-7}$

#### **3. L'utilisation d'imidaclopride**

Il est utilisé à la structure des bâtiments (termites) et aux animaux domestiques (puces) (Jeschke et al. 2011), ou pour la pulvérisation des cultures. Il a pour cible les insectes ravageurs incluant les sauterelles, pucerons, mouches, termites, coccinelles, les insectes de l'herbe et du sol (Moriya et al., 1992).

#### **4. Toxicocinétique et mécanismes d'action toxique**

La pénétration par voie cutanée de l'imidaclopride semble très faible, tout comme par voie respiratoire de par la très faible volatilité de la molécule ( $4.10^{-7}$  mPa à 25°C).

L'absorption digestive est complète et rapide, l'insecticide est ensuite métabolisé au niveau hépatique puis éliminé principalement par voie fécale (70 %) mais aussi urinaire (20-30 %). Plus de 95 % d'une dose ingérée par voie orale sont éliminés en moins de 48 heures en raison de la non-accumulation dans l'organisme. De plus, l'imidaclopride ne passe pas ou très peu à travers la barrière hémato-méningée.

L'imidaclopride n'est pas irritant pour la peau et les muqueuses, ni sensibilisant. Une intoxication aiguë entraîne une apathie, des tremblements avec ataxie, une hypothermie et un arrêt respiratoire. Ces symptômes sont liés à une inhibition de la transmission de l'influx nerveux au niveau des synapses cholinergiques en se liant de manière irréversible aux récepteurs nicotiques post-synaptiques de l'acétylcholine. Des doses importantes peuvent entraîner une élévation du cholestérol sanguin et une augmentation des lésions thyroïdiennes. L'imidaclopride n'est pas mutagène sur test bactérien et les études de cancérogénèse animale sont négatives.

La forte toxicité de l'imidaclopride ou du thiaméthoxame pour les insectes s'explique par la prédominance des récepteurs nicotiques dans ces espèces et par l'affinité des molécules pour les sous-types de récepteurs impliqués (**Grillet, 2007**).

### 5. Effets toxicologiques

#### 5.1. Toxicité aiguë

L'imidaclopride est modérément toxique, la LD 50 par voie orale est de 450 mg/kg de poids corporel chez le rat (**Meister, 1995**) et de 131 mg/kg chez la souris (Kidd et James, 1994). La LD50 chez le rat par voie cutanée est >5 000 mg/kg après 24 heures. Il est considéré nonirritant pour les yeux et la peau (lapins), et sans effet pour des cobayes (**Kidd et James, 1994**). Concernant la toxicité d'inhalation aiguë chez le rat, la LC50 aéroportée de l'imidaclopride est > 69 mg/m<sup>3</sup> d'air sous forme d'aérosol, et >5323 mg/m<sup>3</sup> d'air sous forme de poussière. Ces valeurs représentent les concentrations auxquelles les symptômes d'empoisonnement aéroportés possibles sont maximaux (**Kidd et James, 1994**).

#### 5.2. Toxicité chronique

Chez le rat, la thyroïde est particulièrement sensible à l'imidaclopride. Des lésions de cette glande sont provoquées par des doses à partir de 17 mg/kg de poids corporel par jour chez les mâles. Des doses légèrement plus élevées, 25 mg/kg par jour, ont réduit le gain de poids chez les femelles. A des doses plus élevées, 100 mg/kg par jour, les effets incluent l'atrophie de la rétine chez les femelles (**Al sayeda, 2007**).



*Partie Pratique*

A decorative black and white frame with intricate scrollwork and floral patterns surrounding the text.

*Matériels et  
méthodes*

### I. Matériel

#### 1. Matériel biologique et condition d'élevage

L'étude a été réalisée sur des rats mâles blancs *Rattus rattus* de la souche *Wistar* au nombre de 30 rats, provenant de l'institut Pasteur d'Alger (Centre d'élevages El Kouba, Alger), âgés de 06 à 08 semaines pesant environ 170-300g. Après la souris d'expérimentation, le rat est le mammifère d'expérimentation de l'ordre des rongeurs le plus utilisé en recherche scientifique.



**Figure 12 :** Rat male *Rattus rattus* de la race *Wistar*

#### ❖ Animaux et élevage

Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation de 30 jours, aux conditions de l'animalerie, à une température de  $25^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  et une photopériode naturelle. L'humidité relative étant voisine de 40%. Les rats sont élevés dans des cages en polyéthylène qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées et la litière changée quotidiennement.



**Figure 13 :** Conditions d'élevage des rats *Rattus rattus*

### 1.2.Produits chimiques

Dans ce travail, nous avons utilisé les néonicotinoïdes à base l'Imidaclopride (IMI) pour le traitement des rats sous forme solution à deux doses 5 et 50 mg/kg/jour pour le traitement des rats. Est un insecticide néonicotinoïde de la famille chimique des chloronicotinylnitroguanidines. (Wismer et Tomlin, 2004).

Le nom de l'Union internationale de chimie pure et appliquée (UICPA) est 1-(6-chloro-3-pyridylméthyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylidèneamine et le numéro d'enregistrement du Chemical Abstracts Service (CAS) est 138261-41-3. (Tomlin et al., 2006).



**Figure 14 : pesticides**

Pour l'évaluation des paramètres biologiques nous avons utilisé des produits et des réactifs majoritairement provenant de sigma, Germany et Biochem, France.

#### ❖ Préparation de la solution de néonicotinoïdes (IMI)

La solution d'IMI a été préparée en utilisant de l'eau dés-ionisée (DI), agitée pendant 24 heures. Pour la préparation des solutions on met (0.24mg et 2.4 mg) de pesticide en poudre avec 100 ml d'eau distille dans deux flacons différents après l'agitation des solutions avec un agitateur.

#### ❖ Choix des doses

Le choix de ces doses d'IMI était basé sur des études réalisées sur l'exploration de ce pesticide dans les matrices biologiques et des tests antérieurs commençant par des doses très élevées. Les doses choisies correspondent à une dose acceptable qui ne provoque aucun signe de toxicité. Les doses utilisées a été calculé à partir des données disponibles sur le produit commercialisé, puisque la DI 50 variait de 424 à 475 mg/kg chez les rats (Duzguner et Erdogan,2010).

### II. Méthodes

#### 1. Répartition et traitement des rats

##### 1.1. Lotissement

Après une phase d'acclimatation aux conditions de l'animalerie. Les rats mâles ont été répartis en 03 groupes de 10 rats chacun, la durée de traitement est de 40 jours. Il s'agit de :

- ❖ **Le 1er groupe de rats** : Contient 10 rats comme témoin ne subit aucun traitement.
- ❖ **Le 2-ème groupe de rats** : Contient 10 rats traités par l'IMI en raison de 5 mg/kg de poids corporel, par voie orale.
- ❖ **Le 3-ème groupe de rats** : Contient 10 rats traités par l'IMI en raison de 50 mg/kg par voie orale (chaque jour pendant 40 jours).



**Figure 15** : Méthode de traitement par voie orale

##### 1.2. Mesure du poids

La mesure de poids est effectuée sur les rats tous les jours d'une façon régulière pendant la durée d'élevage, soit au cours d'adaptation ou traitement (avant le traitement) à l'aide de balance électronique.



**Figure 16** : Mesure du poids des rats dans laboratoire

### 2. Sacrifice et prélèvement d'organes

Après 40 jours de traitement les rats de 03 lots ont été sacrifiés, les cerveaux ont été rapidement prélevés après la dissection et rincés dans une solution de chlorure de sodium (NaCl) à 0,9% puis pesées et conservées à température (-20°C), pour les dosages des différents paramètres.

Le sacrifice des animaux des différents groupes étudiés est effectué à la même heure (8 h du matin) pour éviter toutes variations dues au rythme circadien. Les rats ont été sacrifiés par décapitation sans anesthésie pour éviter tout état de stress.



**Figure 17 :** Le sacrifice de rat.

Les rats sacrifiés ont été pesés puis ouverts ventralement pour le prélèvement des organes (figure 18).



**Figure 18 :** Prélèvement des organe

### **3. Estimation du poids relatif du cerveau**

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

$$\text{PRc (g/100g de PT)} = \text{Pc/PT} \times 100$$

**Pc:** poids du cerveau (g).

**PT :** poids total de rat (g).

**PRC :** poids relatif des cerveaux (g)

## MATERIELS ET METHODES

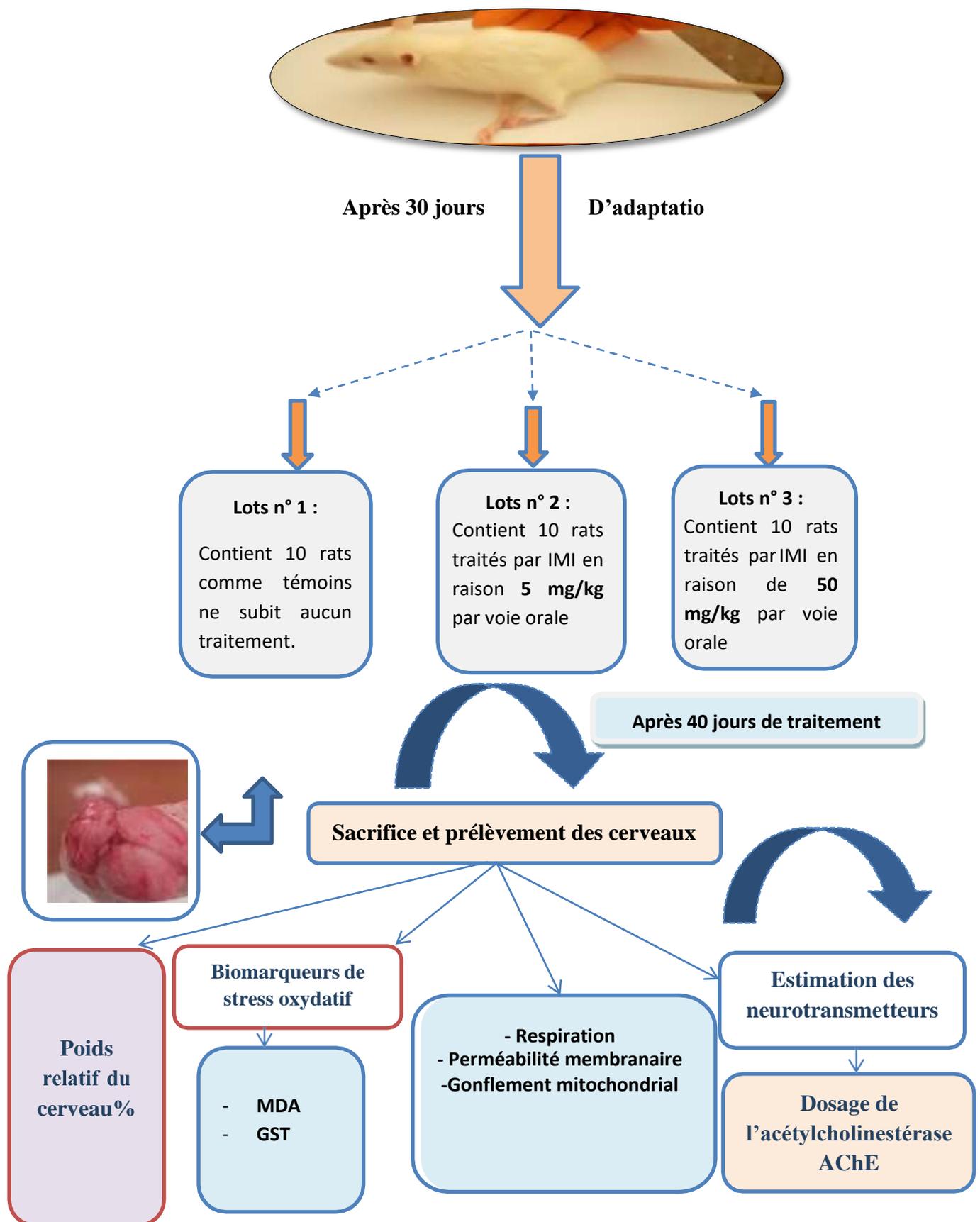


Figure 19 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

#### 4. Préparation de suspensions mitochondriales

L'extraction des mitochondries se fait selon la méthode décrite par **Rustin et al (1994)**, il s'agit d'une purification par centrifugation différentielle. Brièvement, après décapitation des rats, les cerveaux sont rapidement prélevés et immergés dans du tampon TSE (10mM tris, 250mM sucrose, 0,1mM EDTA, pH 7,2 à 4C°). Les tissus nerveux sont coupés finement et potérisés dans 3,5ml de TSE, ce qui permet la destruction des cellules et la libération des mitochondries. L'homogénat récupéré est centrifugé à 10000t/min pendant 10min permettant ainsi l'élimination des gros débris cellulaires. Le culot récupéré est centrifugé une deuxième fois à 10000t/min pendant 10min. Les surnageants issus des deux centrifugations sont récupérés et centrifugés à 14000t/min à 4C° pendant 10min. Le culot obtenu est resuspendu dans 1ml du TSE et centrifugé à 14000t/min pendant 10min. Le culot issu de cette dernière centrifugation est resuspendu dans 1ml du tampon TS (250mM sucrose, 50mM tris, pH 7,2 à 20 C°) et centrifugé pendant 10min à 14000t/min. Le culot final constitué des mitochondries, est récupéré dans 500µl de tampon TS pour obtenir la suspension mitochondriale fraîche dont une fraction servira directement dans l'évaluation de l'intégrité structurale et fonctionnelle des mitochondries, le reste est conservé à -80° C pour la suite des dosages.

#### 5. Préparation de la matrice mitochondriale

La suspension mitochondriale est congelé-décongelé de 6 à 8 fois avec potérisation accrue et répétée, afin d'éclater les mitochondries. Après centrifugation de 10min à 9600t/min, le surnageant est utilisé comme source des paramètres de stress (**Lahouel et al., 2015**).

Evaluation du gonflement, perméabilité et respiration mitochondriales

Selon la méthode de **Crystal et al (1996)**, nous avons réalisé l'estimation de la perméabilité mitochondriale basée sur le taux des ions de Ca<sup>++</sup> qui traversent leurs membranes, cette perméabilité suivie par une augmentation de la taille de la mitochondrie détectée à une longueur d'onde de 540 nm pendant 3 minutes et chaque 30sec. La respiration a été estimée en utilisant un Oxygraph (*Hansatech*®) selon la méthode décrite par **Rouabhi et al (2006 ; 2009)**

## **6. Evaluation des paramètres de stress oxydatif**

Qui comprend des paramètres enzymatiques et non enzymatiques.

### **6.1. Biomarqueurs non enzymatiques**

#### **6.1.1. Dosage du Malondialdéhyde (MDA)**

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) méditées par les radicaux libres.

##### **❖ Principe**

Les malondialdéhydes (MDA) sont dosé selon la méthode d'**Esterbauer et al (1992)**. Cette méthode est basée sur la mesure colorimétrique de la réaction entre l'acide thiobarbiturique (TBA) et le malondialdéhyde (MDA) dans un milieu acide et chaud (100°C) en donnant un produit rouge brun dont l'intensité de la coloration est mesurée à une longueur d'onde de 530 nm.

##### **❖ Protocole expérimental**

- Préparer les homogénats à partir de 200mg d'organe avec tampon d'homogénéation TP (pH 7,4).
- Centrifuger à 3000 tours/min pendant 10 min.
- Prélever 375 µl de surnageant.
- Ajouter 150 µl de solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4).
- Ajouter 375 µl de solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%).
- Agiter et centrifuger à 1000 tours/min pendant 10 min.
- Prélever 400 µl de surnageant.
- Ajouter 80 µl d'HCl 0.6 M.
- Ajouter 320 µl de solution Tris-TBA (Tris 26 mM, TBA 120 mM).
- Mélanger et incuber au bain marie à une température de 80°C pendant 10 min.
- Lire la densité optique à  $\lambda = 530$  nm.
- L'absorbance est directement proportionnelle à la quantité de MDA formé, donnant ainsi une évaluation précise des lipides peroxydés. La concentration du MDA est calculée selon la loi de Beer-Lambert ( $DO = E.C.L$ ).

**C** : la concentration en nmole /mg de protéines.

**DO** : Densité optique lue à 530 nm.

**E**: Coefficient d'extinction molaire du MDA =  $1,56.10^5$  M-/cm.

**L** : Longueur de la cuve utilisée (1cm).

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

**F.d** : Facteur de dilution (Fd = 0.2083).

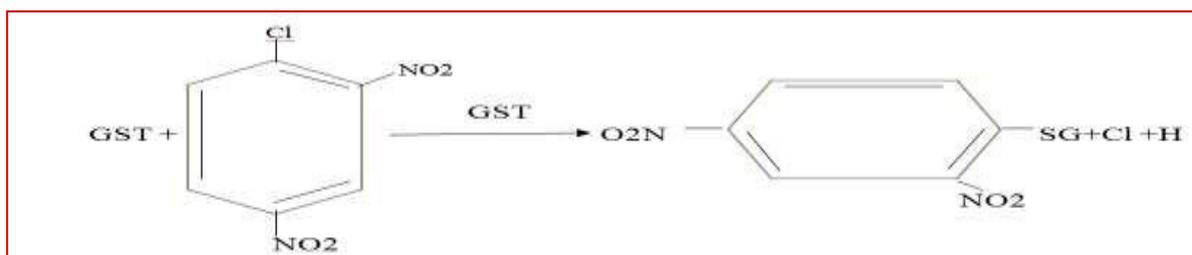
## 6.2. Biomarqueurs enzymatiques

### 6.2.1. Dosage de l'activité de glutathion S-Transférase (GST)

Les glutathion S-transférases appartiennent à une famille d'enzyme multifonctionnelle essentiellement cytosolique, impliqués dans le transport et la biosynthèse intracellulaire, elles catalysent des réactions de conjugaison entre un peptide endogène, le glutathion, et des molécules réactives comportant des sites électrophiles.

La mesure de l'activité de glutathion S-Transférase (GST) est déterminée selon la méthode de **Habig et al. (1974)**, elle mesure la cinétique de formation entre un substrat modèle, le chlorodinitrobenzène (C-DNB) et le glutathion ; Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-Chloro2, 4 di nitrobenzène) en d'un cofacteur le glutathion (GST), la conjugaison entraîne la formation d'une molécule nouvelle.

1-S-Glutathionyle 2-4Di nitrobenzène permettant de mesurer l'activité de GST selon la réaction suivante:



La valeur de la densité optique mesurée est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formé elle-même liée à l'intensité de l'activité GST.

Pour cela, nous avons procédé aux étapes suivantes :

Homogénéisation par 1 ml de tampon phosphate (0.1 M, pH 06).

L'homogénat est centrifugé à 14000 t/min pendant 30 min et le surnageant récupérer servira comme source d'enzymes.

Le dosage consiste à faire réagir 200µl du surnageant avec 1.2 ml du mélange CDNB(1mM), GSH (5mM) [20.26 mg CDNB, 153.65mg GSH, 1 ml éthanol, 100 ml tamponphosphate (0.1 M, pH 06)].

La lecture des absorbances est effectuée pendant une minute et chaque 15 secondes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

La lecture de l'absorbance se fait à 340 nm après 30 s en intervalle de 3 min. La concentration de la GST est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GST (nmol GST/min/mg protéine)} = \frac{(\text{DO échant/min} - \text{DO blanc/min})}{9,6 \times \text{mg de protéine}}$$

$\Delta DO$  échantillon –  $\Delta DO$  blanc : moyenne des DO des échantillons par minute –moyenne des DO des Blancs par minute.

$\epsilon$ : Coefficient d'extinction moléculaire du C-DNB,  $\epsilon$  C-DNB=9.6 mM<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>

**L**: Trajet optique de la cuve =1cm.

### 7. Estimation des Neurotransmetteurs

#### 7.1.Dosage de l'acétylcholinestérase AChE

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- $\beta$ -aminoéthyl éther N N N' 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 : 100 $\mu$ l de surnageant sont additionnées à 100 $\mu$ l 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, 100 $\mu$ l de substrat acétylthiocholine (118mg ACh dans 5ml d'eau distillée) sont ajoutés. La lecture des densités optiques s'effectue à 412nm toutes les 4min pendant 20min.

### 8. Etude statistique

- ❖ Ces calculs ont été effectués à l'aide de logiciel MINITAB d'analyse et de traitement statistique des données (version 18.01).
- ❖ Les résultats obtenus sont traités sous la forme de (moyenne  $\pm$  écartype) et ensuite ont été représentés en des graphes à l'aide de Microsoft Office Excel 2010.
- ❖ La signification de différence entre le lot témoin et les lots traités est vérifiée en utilisant le test de Dunnett et de Tukey.
- ❖ La valeur trouvée par le calcul du test peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur  $p$  tel que :

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

$0,05 > p > 0,01$  = la différence est significative\*

$0,01 > p > 0,001$  = la différence est hautement significative\*\*

$p < 0,001$  = la différence est très hautement significative\*\*\*

- ❖ Nous avons déterminé, grâce aux statistiques élémentaires ; les paramètres statistiques pour chaque lot expérimental. Les données ont été analysées par l'analyse de la variance à un seul critère de classification (ANOVA I)

A decorative black and white frame with intricate scrollwork and floral patterns. The frame is rectangular with rounded corners and a central opening. The word "Résultats" is centered within this frame in a bold, italicized serif font.

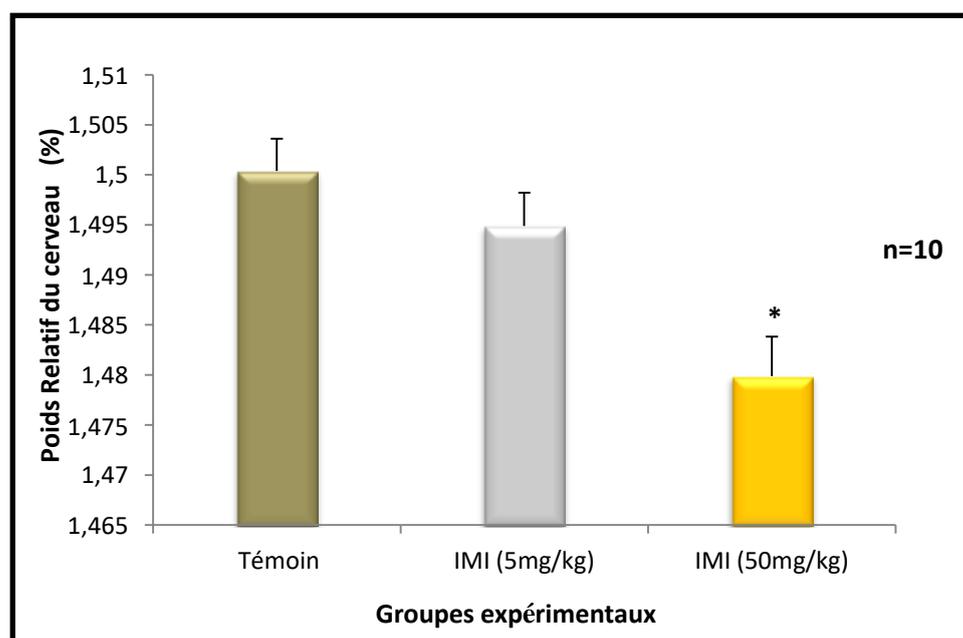
***Résultats***

## RESULTATS

### 1. Effet de l'Imidaclopride (IMI) sur le Poids relatif du cerveau (%)

Nous avons suivi l'évolution des poids absolus (PA) et relatifs (PR) du cerveau chez les rats témoins et les rats traités par l'Imidaclopride (IMI).

Pour le suivi des changements des poids relatifs du cerveau des rats pendant la période du traitement. Nous remarquons une diminution significative ( $p < 0.05$ ) du poids relatif du cerveau chez le groupe traité par l'Imidaclopride (IMI) à dose (50mg/kg/j) comparant au groupe témoin. Tandis que, on enregistre une diminution non significative ( $p > 0.05$ ) chez le groupe traité par l'Imidaclopride (IMI) à dose (5mg/kg/j) par rapport aux témoins.



**Figure 20** : Evaluation des poids relatifs du cerveau chez les rats témoins et traités par l'Imidaclopride (IMI) après 40 jours de traitement

. \* significative ( $P \leq 0.05$ ),

\*\* hautement significative ( $P \leq 0.01$ ),

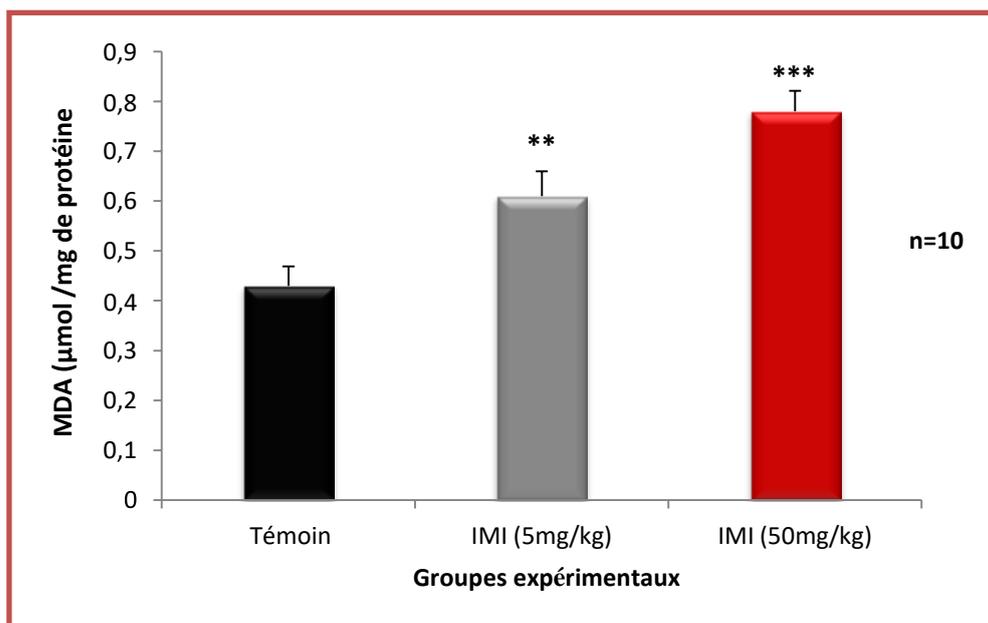
\*\*\* très hautement significative ( $P \leq 0.001$ ).

## RESULTATS

### 2. Effet de l'Imidaclopride (IMI) sur le statut redox mitochondrial dans le cerveau total

#### 2.1. Effet sur le taux de Malondialdéhyde (MDA)

D'après les résultats présentés dans la figure 21. On observe une augmentation très hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) du taux de MDA chez les rats traités par l'IMI (50mg/kg) et une augmentation hautement significative chez les rats traités par l'IMI (5mg/kg) par rapport au groupe témoin.



**Figure 21 :** Variation du taux de MDA ( $\mu\text{mol/mg de protéine}$ ) dans le cerveau total chez les rats témoins et traités après 40 jours.

\* significative ( $P \leq 0.05$ ),

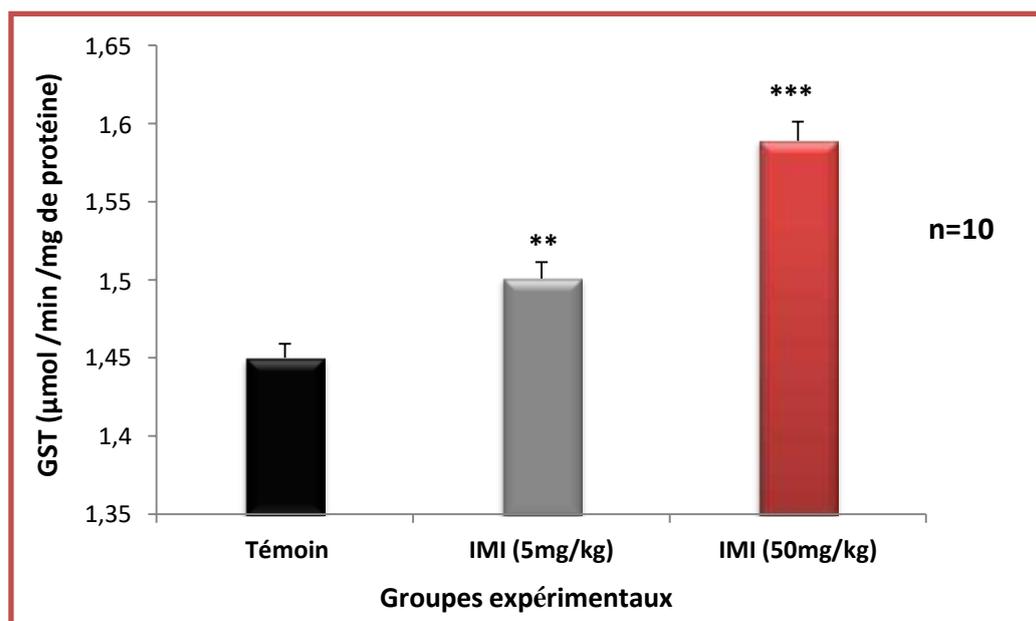
\*\* hautement significative ( $P \leq 0.01$ ),

\*\*\* très hautement significative ( $P \leq 0.001$ ).

## RESULTATS

### 2.2.Effet sur les variations de l'activité GST (Glutathion –S-transférase)

Cette figure (22) représente la variation de l'activité de GST mitochondriale chez les rats traités par l'Imidaclopride (IMI), dans notre travail nous observons qu'il y a une augmentation hautement significative ( $P < 0.01$ ) chez les lots traités par l'Imidaclopride (IMI) à dose (5 mg/kg/j) et une augmentation très hautement significative ( $p < 0.001$ ) chez les lots traités par l'Imidaclopride (IMI) à dose (50mg/kg/j) par rapport au groupe témoin.



**Figure 22 :** Activité enzymatique de GST mitochondriale dans le cerveau chez les rats témoins et traités par l'Imidaclopride (IMI) après 40 jours de traitement.

\* significative ( $P \leq 0.05$ ),

\*\* hautement significative ( $P \leq 0.01$ ),

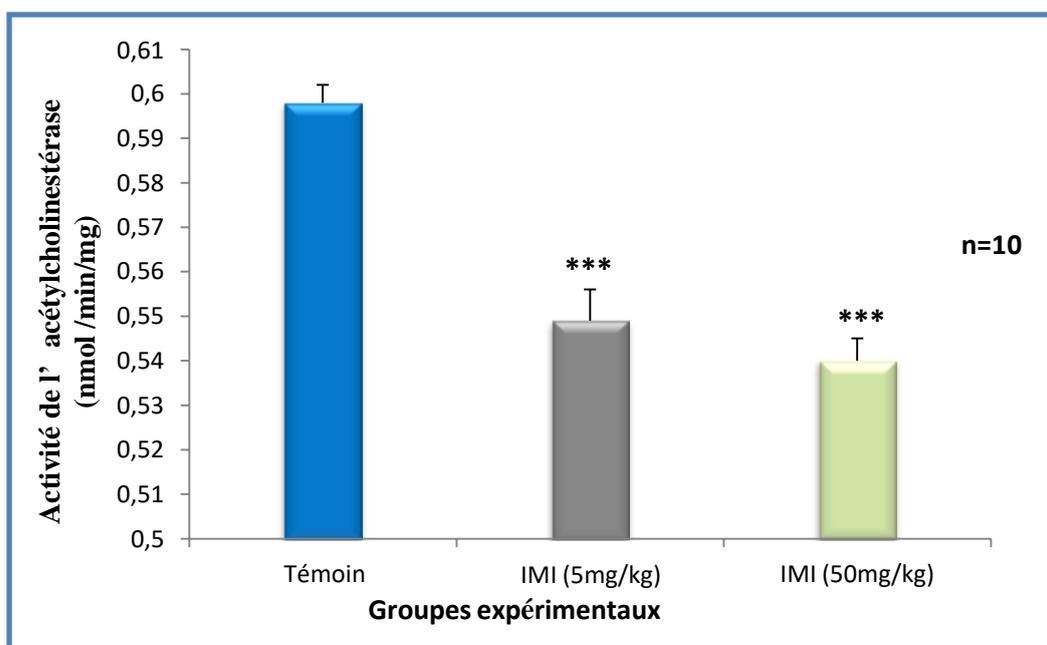
\*\*\* très hautement significative ( $P \leq 0.001$ ).

## RESULTATS

### 3. Effet de l'Imidaclopride (IMI) sur les neurotransmetteurs dans le cerveau total

#### 3.1. Activité de l'acétylcholinestérase dans le cerveau total

Une diminution très hautement significative ( $P < 0.001$ ) de l'activité de l'AchE est enregistrée dans le cerveau global chez les groupes traités par l'Imidaclopride (IMI) aux doses (5mg/kg/jour, 50mg/kg/jour) par rapport au groupe témoin.



**Figure 23 :** Activité de l'acétylcholinestérase dans le cerveau total chez les rats témoins et traités par l'Imidaclopride (IMI), après 40 jours de traitement.

\* significative ( $P \leq 0.05$ ),

\*\* hautement significative ( $P \leq 0.01$ ),

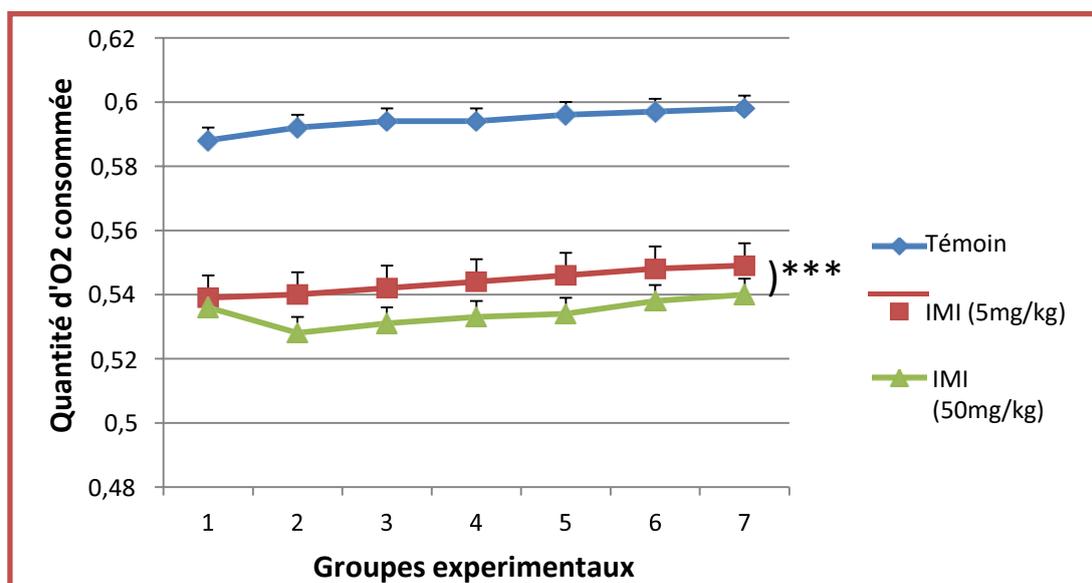
\*\*\* très hautement significative ( $P \leq 0.001$ ).

## RESULTAT

### 4. Effets de l'Imidaclopride (IMI) sur les paramètres de respiration, perméabilité membranaire et gonflement mitochondrial dans le cerveau total

#### 4.1. Effet de l'Imidaclopride (IMI) sur la respiration mitochondriale dans le cerveau total

La figure 24 montre une diminution très hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) de la concentration d'oxygène consommé dans le cerveau total chez les groupes traités par l'Imidaclopride (IMI) aux doses (5mg/kg/jour, 50mg/kg/jour) par rapport au groupe témoin.



**Figure 24 :** Variation de la respiration mitochondriale dans le cerveau total chez les rats traités durant 40 jours par l'Imidaclopride (IMI)

\*significative ( $P \leq 0.05$ ),

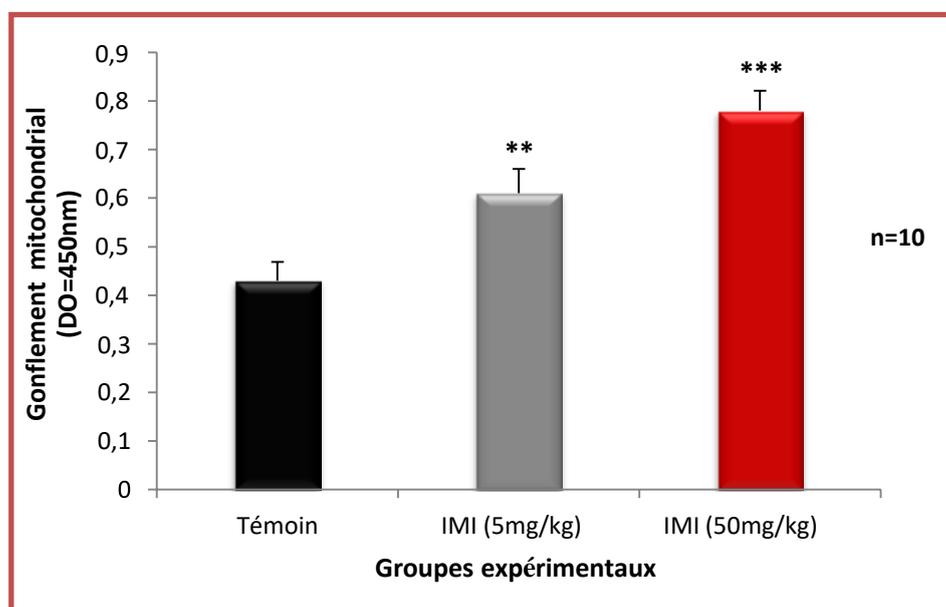
\*\* hautement significative ( $P \leq 0.01$ ),

\*\*\* très hautement significative ( $P \leq 0.001$ ).

## RESULTATS

### 4.2.Effet de l'Imidaclopride (IMI) sur le gonflement mitochondrial dans le cerveau total

Les résultats de l'évaluation du gonflement mitochondrial sont illustrés dans la figure 25, qui montre une augmentation très hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) du taux de gonflement mitochondrial dans le cerveau global chez les groupes traités par l'IMI (50mg/kg) et une augmentation hautement significative chez les rats traités par l'IMI (5mg/kg) par rapport au groupe témoin.



**Figure 25 :** l'évaluation du gonflement mitochondrial dans le cerveau total chez les rats traités par l'Imidaclopride (IMI), après 40 jours de traitement

\*significative ( $P \leq 0.05$ ),

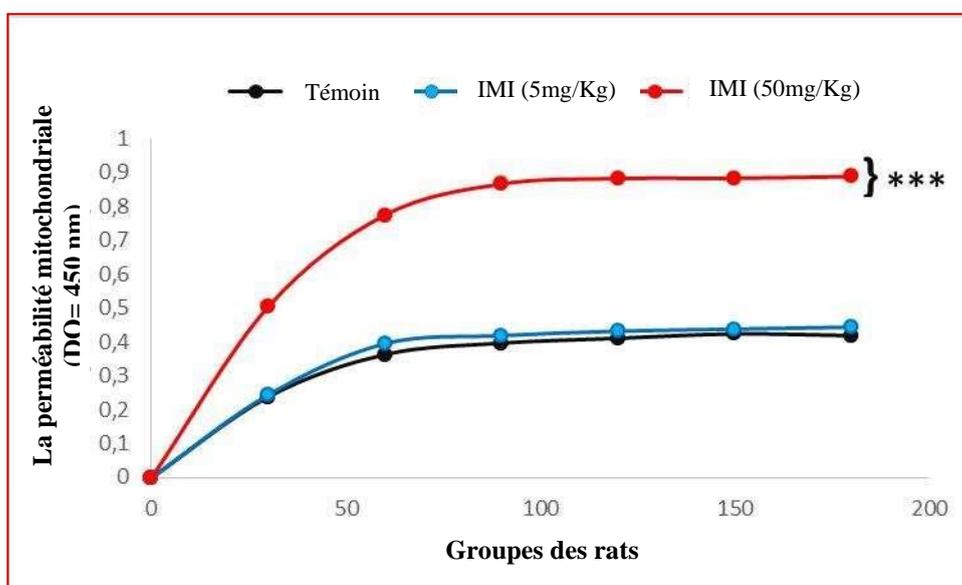
\*\* hautement significative ( $P \leq 0.01$ ),

\*\*\* très hautement significative ( $P \leq 0.001$ ).

## RESULTATS

### 4.3.Effet de l'Imidaclopride (IMI) sur la perméabilité membranaire mitochondriale dans le cerveau global

D'après les résultats présentés dans la figure 26. On observe une augmentation très hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) de la perméabilité mitochondriale est enregistrée dans le cerveau global chez les rats traités par l'IMI (50mg/kg) et une augmentation significative chez les rats traités par l'IMI (5mg/kg) par rapport au groupe témoin.



**Figure 26 :** Variation de la perméabilité membranaire mitochondriale dans le cerveau total chez les rats traités par l'Imidaclopride (IMI), après 40 jours de traitement.

\*significative ( $P \leq 0,05$ ),

\*\* hautement significative ( $P \leq 0,01$ ),

\*\*\* très hautement significative ( $P \leq 0,001$ ).

A decorative, ornate frame with intricate scrollwork and floral patterns, surrounding the central text. The frame is black and white, with a central rectangular opening.

# *Discussion*

### Discussion

Les pesticides sont des produits chimiques utilisés comme moyen de lutte antiparasitaire (insecticides, herbicides, fongicides...) (Leyral et Vierling, 2007). Parmi eux, les néonicotinoïdes, sont des insecticides largement utilisés dans le traitement des semences contre des insectes suceurs de sève (Blottière et Estelle, 2019). Elles possèdent une signature moléculaire similaire à un neurotransmetteur naturel très important du système nerveux (Tomizawa et Casida, 2001).

La mitochondrie est un organe ubiquitaire chez les cellules eucaryotes aérobies engagées dans différentes réactions biochimiques, se trouve dans toutes les types cellulaires sauf les globules rouges (Rachidi, 2011).

Le stress oxydant est le résultat des processus de multi-étapes causant par un déséquilibre dans la balance entre les pro-oxydants et les antioxydants (enzymatique et non enzymatique) et menant aux dommages tissulaires conduisant en premier lieu à de nombreuses maladies et finalement à l'apoptose. (Lee *et al.*, 2016).

Dans notre étude nous sommes intéressés, à priori à la mise en évidence d'un éventuel effet neurotoxique sur le cerveau total chez le rat exposé à l'imidaclopride, l'un des insecticides systémiques les plus utilisés dans le monde (Stein, 1992 ; Tröltzsch, 1994).

#### 1. Effet de l'Imidaclopride (IMI) sur le Poids relatif du cerveau (%)

Nous remarquons une diminution significative ( $p < 0.05$ ) du poids relatif du cerveau chez le groupe traité par l'Imidaclopride (IMI) à dose (50mg/kg/j) comparant au groupe témoin. Tandis que, on enregistre une diminution non significative ( $p > 0.05$ ) chez le groupe traité par l'Imidaclopride (IMI) à dose (5mg/kg/j) par rapport aux témoins. Cette diminution peut être traduite 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 les effets toxiques des pesticides (Carole et Harve, 2011 ; Viviana, 2015).

Le poids relatif a atteint une diminution significative qui explique par hypotrophie des tissus de cerveau causée par l'imidaclopride. Et il est probablement due à la dégradation des cellules nerveuses et l'activation de l'excrétion des lipides d'une part et l'augmentation de la libération des molécules réactives d'oxygène et provoquent l'oxydation accrue des protéines qui causent la mort cellulaire ou réduisant ainsi les cellules. Ceci est confirmé par Q. Zhanget *al.*, (2010) ont étudié in vitro l'effet de pesticide Lambda-cyhalothrine qui peut augmenter la génération des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les niveaux de dommages à l'ADN

provoquer une cytotoxicité dans les cellules de manière proportionnelle à la dose et au temps. D'autre part, nous expliquons la différence des résultats entre les deux doses d'Imidaclopride 5 et 50 mg /kg par le principe de toxicologie de la relation dose/effet.

## 2. Effet neurotoxique des néonicotinoïdes

### 2.1.Effet de l'Imidaclopride (IMI) sur les neurotransmetteurs dans le cerveau total

#### 2.1.1. Activité de l'acétylcholinestérase dans le cerveau total

Dans notre étude nous remarquons une diminution très hautement significative ( $P < 0.001$ ) de l'activité de l'AchE est enregistrée dans le cerveau global chez les groupes traité par l'Imidaclopride (IMI) aux doses (5mg/kg/jour, 50mg/kg/jour) par rapport au groupe témoin. Cette diminution de l'activité d'acétylcholine est à l'origine de troubles de la contraction musculaire, de la mémoire, manque de concentration, oublis ...etc. Ce neuromédiateur est dégradé par l'acétylcholine-estérase (AChE) dans la fente synaptique après chaque influx nerveux cholinergique (**Akaike et al., 2009**). Les résultats de cette étude, présentent une augmentation significative de l'activité d'AChE dans le cerveau total, l'hippocampe et le Striatum chez les rats exposés aux pesticides.

L'impact des néonicotinoïdes a été rapporté aussi par (**Bhardwaj et al., 2010**) chez les rats *Wistar* après l'administration de 20 mg/kg/jour de l'imidaclopride par voie orale. Leurs résultats ont montrés l'inhibition de l'activité spécifique l'acétylcholinestérase (AChE). Des résultats similaires ont été rapportés par (**Rodrigues et al., 2010**). **Banerjee, et al., (2014)** à bien montrés l'altération de cette enzyme clé de système nerveux après l'administration d'un composé le pendimethaline aux rats. Cependant l'injection intra péritonéale de l'imidaclopride à une dose de 337mg/kg/jour pendant 30 jours provoque chez le rat une augmentation dans l'activité spécifique de cette enzyme en induisant de ce fait l'altération de système nerveux et une tétanie musculaire (**Abou-Donia et al., 2008**). Des travaux récents réalisés par **Lonare et al., (2014)** ont rapporté une diminution significative l'acétylcholinestérase dans le plasma et le cerveau des rats traités par voie orale avec l'imidaclopride comparativement aux séries témoins .

### 3. Effets des pesticides IMI sur le statut redox mitochondrial dans le cerveau total

#### 3.1. Effet sur le taux de Malondialdéhyde (MDA)

Le MDA est un marqueur généré secondairement après la peroxydation lipidique provoquée par une altération de la membrane plasmique à travers l'attaque des acides gras polyinsaturés. Cette lipo-péroxydation membranaire semble dépendre de l'organe qui accumule plus de métal (**Ferrat et al., 2003**)

D'après nos résultats, nous observons une augmentation très hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) du taux de MDA chez les rats traités par l'IMI (50mg/kg) et une augmentation hautement significative chez les rats traités par l'IMI (5mg/kg) par rapport au groupe témoin. La peroxydation lipidique accrue chez les rats traités à l'imidaclopride indiquant l'absence d'une génération excessive de radicaux libres provenant du métabolisme de l'imidaclopride dans le cerveau. L'augmentation de la peroxydation lipidique a conduit à la perturbation de l'intégrité de la membrane des cellules nerveuses.

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**). Il est évident donc que la peroxydation des lipides membranaires détruit la structure de la matrice lipidique des membranes des neurones (**Dimauro et Schon, 2008**). Et est associée à une **perte rapide de l'ATP** intracellulaire menant à une diminution de la viabilité des neurones menant à **une dégénérescence cellulaire** dans le cerveau total, avec tout son impact négatif sur la physiologie et le neurocomportemental des rats intoxiqués par ces pesticides (**Ekaluo et al., 2013 ; Galal et al., 2014**).

### **3.2.Effet sur les variations de l'activité GST (Glutathion –S-transférase) mitochondriale**

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

Nous observons que il y a une augmentation hautement significative ( $P < 0.01$ ) chez les lots traités par l'Imidaclopride (IMI) à dose (5 mg/kg/j) et une augmentation très hautement significative ( $p < 0.001$ ) chez les lots traités par l'Imidaclopride (IMI) à dose (50mg/kg/j) par rapport au groupe témoin. L'augmentation de l'activité de cette enzyme est une réponse physiologique pour compenser les dommages qui sont dus aux radicaux libres. **(Di-Monte, 1992).** Et ce accord avec Les travaux de **Lonare et al., (2014)** ont montré la mise en place d'un système de détoxification chez les rats après l'administration d'un néonicotinoïde l'imidaclopride par voie orale à deux doses 45 et 90 mg/kg. En effet une augmentation dans l'activité de deux enzymes de détoxification la GSH et la GST est enregistrée comparativement aux témoins.

### **4. Effets des pesticides IMI sur l'intégrité structurale et fonctionnelle des mitochondries**

#### **4.1.Effets de l'Imidaclopride (IMI) sur les paramètres de respiration, perméabilité membranaire et gonflement mitochondriales dans le cerveau total**

Les Dommages mitochondriales contribuent à une diminution de la production d'ATP **(Cassarino et Bennettjr, 1999 ; Datta et Kaviraj, 2003).**

Nous remarquons une diminution très hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) de la concentration d'oxygène consommé dans le cerveau total chez les groupes traités par l'Imidaclopride (IMI) aux doses (5mg/kg/jour, 50mg/kg/jour) par rapport au groupe témoin.

En effet , Les résultats de l'évaluation du gonflement mitochondrial sont montre une augmentation très hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) du taux de gonflement mitochondrial dans le cerveau global chez les groupes traités par l'IMI (50mg/kg) et une augmentation hautement significative chez les rats traités par l'IMI (5mg/kg) par rapport au groupe témoin et aussi on observe une augmentation très hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) de la perméabilité mitochondriale est enregistrée dans le cerveau global chez les rats traités par l'IMI (50mg/kg) et une augmentation significative chez les rats traités par l'IMI (5mg/kg) par rapport au groupe témoin. Cet état d'effets est le résultat de l'action des ROS produits par les pesticides étudiés.

## DISCUSSION

Les altérations dans l'un des complexes mitochondriaux provoquent la production des radicaux libres, ce qui conduit à la dépolarisation de la membrane mitochondriale et une activation ultérieure des récepteurs voltage-dépendants, ce qui permet l'afflux de calcium dans la cellule et le déclenchement des voies de la mort cellulaire (**Lin et Beal, 2006**).

Il est bien admis que la surcharge calcique est responsable du gonflement mitochondrial pouvant provoquer la formation de monoxyde d'azote (NO), et permettre d'activer l' xanthine oxydase dans le sens de générer l'anion superoxyde qui inactive la NADH-déshydrogénase, la NADH-oxydase et l'ATPase générant au final un état de stress oxydatif mitochondrial (**Zhang et Darley, 2000**).

L'augmentation du gonflement mitochondrial est due à la perturbation des pores géants voltages dépendant sous l'effet des ROS entraînant l'entrée massive de l'eau et des ions de  $\text{Ca}^{2+}$  et de  $\text{Na}^+$  via les membranes mitochondriales (**Romero et al., 2012 ; Morris et Berk, 2015 ; Henine et al., 2016**). Aussi, selon **Johnson et Deckwerth (1993) et Kumar et al. (2014)**. L'apoptose cellulaire est le résultat final d'une agression par les ROS, elle est caractérisée morphologiquement par une dilatation du réticulum endoplasmique puis, après augmentation du volume mitochondrial et gonflement de la cellule, on assiste à une rupture des membranes (**Ben-Haiand, 2014**). Le gonflement mitochondrial permet ensuite l'externalisation de plusieurs protéines pro-apoptotiques, telle que le cytochrome-c, de la mitochondrie vers le cytosol permettant le déclenchement de la voie de signalisation apoptotique et la mort cellulaire (**Zhang et Darley, 2000 ; Fethi et al., 2013**)

A decorative black and white frame with intricate scrollwork and floral patterns, surrounding the central text.

*Conclusion et  
Perspective*

### Conclusion et prescriptive

Plusieurs études in-vivo ont découvert que les néonicotinoïdes est capable d'induire une toxicité au niveau des différents organes.

L'ensemble de nos travaux a permis de prouver que l'imidaclopride a une toxicité remarquable au niveau du cerveau grâce à leur mode d'action.

Les résultats obtenus dans la présente étude, ont permis de conclure que l'exposition des rats à l'imidaclopride provoqué une induction du système de détoxification ainsi qu'une neurotoxicité. Par :

- ❖ La diminution significative du poids relatif du cerveau.
- ❖ Un accroissement très hautement significatif du niveau de MDA indiquant l'augmentation de la peroxydation lipidique.
- ❖ Une augmentation hautement significative de l'activité de GST.
- ❖ Une diminution très hautement significative de l'activité de l'AchE.
- ❖ Une diminution très hautement significative de la concentration d'oxygène.
- ❖ Une augmentation très hautement significative du taux de gonflement mitochondrial.

Une augmentation très hautement significative de la perméabilité mitochondriale.

Cette étude reste préliminaire, elle nécessite d'autres études à l'échelle moléculaire pour développer le mécanisme de la neurotoxicité des néonicotinoïdes et en particulier de l'imidaclopride et à déterminer la toxicité à d'autres niveaux.

## Bibliographie

- Abou-Donia MB, Goldstein LB, Bullman S, Tu T, Khan WA, Dechkovskaia AM, et Abdel Rahman AA, 2008.** Imidacloprid induces neurobehavioral deficits and increases expression of glial fibrillary acidic protein in the motor cortex and hippocampus in offspring rats following in utero exposure. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A.*; 71(2): 119 -130.
- Akaike A, Takada Y, Kume T, Izumi Y, 2009.** Mechanisms of Neuroprotective Effects of Nicotine and Acetylcholinesterase Inhibitors. *Neuro Sci*; 09: 9236-1
- Alberts B, Johnson A, Lewis J et al. 2002.** *Molecular Biology of the Cell.* 4 ième édition. Garland Science, New York. ISBN : 0-8153-3218-1 (Fabrice Gzil, Emmanuel Hirsch Dans *Alzheimer, éthique et société* 2012, pages (581 à 587).
- Am Fam, Physician.** ; 65(8):1599-604.
- Anderson S et Kurland C G, 1998.** Ancient and recent horizontal transfer events: the origins of mitochondria. *APMIS Suppl.* 84 : 5-14.
- Antoine St-Denis, 2019.** Neurosciences ? Neuro-anatomie, Organes de sens Sensibilité Vision,
- Archibald J M, 2015.** Endosymbiosis and Eukaryotic Cell Evolution. *Curr. Biol. CB* 25, R911-921.
- Banerjee A, Manna S, Saha SK, 2014.** Effect of aqueous extract of *Azadirachta indica* A. Juss (neem) leaf on oocyte maturation, oviposition, reproductive potentials and embryonic development of a freshwater fish ectoparasite *Argulus bengalensis* Ramakrishna, 1951 (Crustacea: Branchiura). *Parasitol. Research.*, 113 (12) : 4641-4650.
- Barouki R, 2013.** Unité mixte de recherche Inserm 747 , Université Paris Descartes.
- Belarouci Sara, Benmokhtar Sara, 2012.** « Méthode coopérative pour la segmentation d'images IRM cérébrales basée sur les techniques FCM et Level Set » mémoire de projet de fin d'étude pour l'obtention du : Diplôme de Master en Signaux et Images en Médecine, Université Abou Bakr Belkaid.
- Benabdallah Khalida, Sendid Bilal, 2016.** Segmentation des gliomes bas grades sur des images IRM par une méthode statistique locale, mémoire de projet de fin d'étude pour l'obtention du Diplôme de Master e en Mathématiques Appliquées Université Abderrahmane Mira de Béjaïa.
- Benguerrah A,** Anatomie de cerveau, Laboratoire Anatomie Chirurgicale Faculté de médecine, Alger.
- Ben-Hai D, hoshan S, 2014.** Assays of Mitochondrial Ca<sup>2+</sup> Transport and Ca<sup>2+</sup> Efflux via the MPTP. *Cold Spring Harb Protocols.*, doi : 10.1101/073163S45-7

**Benyahia Amina, Boucetta Meriem, Leghouchi L, 2021.** Etude de l'impact de l'exposition sub-chronique de pesticide imidaclopride chez le rat *Wistar* albinos sur le foie, Université de Jijel.

**Bhardwaj S, Srivastava MK, Kapoor U et Srivastava LP, 2010.** A 90 days oral toxicity of imidacloprid in female rats: morphological, biochemical and histopathological evaluations. *Food and chemical toxicology*. 48(5): 1185-1190.

**Boland J, Koomen I , Van Lidth I , JEUDE. D E, J.oudejans, 2004.** Les pesticide composition, utilisation et risques. Editions Agrodok.

**Bryan Kolb, Ian Q. Whishaw G. Campbell Teskey, 2019.** Cerveau et compartiment, 5e edition.

**Buege JA, Aust SD, 2005.** Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 105:302-310.

**Calvet.R,** Les pesticides dans le sol, 1984 edition France Agricole.

**Carole I, Harvé Q, 2011.** Désordres métaboliques et réanimation : de la physiopathologie au traitement. Berlin Heidelberg. New York., ISBN: 978-2-287-99026-7. 522pp.

**Cassarino D, Bennett Jr, 1999.** An evaluation of the role of mitochondria in neurodegenerative diseases: mitochondrial mutations and oxidative pathology. Protective nuclear responses and cell death in neurodegeneration, *Brain Res Rev* 29: 1-25.

**Castello PR, Drechsel DA, Patel M, 1999.** Mitochondria are a major source of paraquat-induced reactive oxygen species production in the brain. *J Biol Chem* 2007; 282 : 14186-93.

**Chabrol. B D L, 2001.** Maladies métaboliques héréditaires. Éditions Doin., 231p. ISBN : 2-7040- 1293.

**Choi WS, Palmiter RD, Xia Z, 2011.** Loss of mitochondrial complex I activity potentiates dopamine neuron death induced by microtubule dysfunction in a Parkinson's disease model. *J Cell Biol* ; 192 : 873-82.

**Christensen HL, Nguyen AT, Pedersen. FD, Damkier HH, 2013.** Na<sup>+</sup> dependent acid-base transporters in the choroid plexus; insights from slc4 and slc9 gene deletion studies. *Front Physiol* 4 (304),

**Datta M, Kaviraj A, 2003.** Acute Toxicity of the Synthetic Pyrethroid Deltamethrin to Freshwater Catfish *Clarias gariepinus* 296-299.

**Di Mauro. S et al, 2006.** Approaches to the treatment of mitochondrial diseases. *Muscle Nerve journal* 34: 265-283.

**Di Monte D, Lavasani M, Manning-Bog Ab. 2002.** Environmental factors in Parkinson's disease. *Neurotoxicology*. 23: 487-502.

**Drechsel DA, Patel M, 2009.** Differential contribution of the mitochondrial respiratory chain

complexes to reactive oxygen species production by redox cycling agents implicated in parkinsonism. *Toxicol Sci* ; 112 : 427-34

**Dridi Imen, 2016.** Etude des effets neurotoxiques induits par l'exposition gestationnelle et lactationnelle des souris « SWISS» dégénération F1 aux anguilles (*Anguilla anguilla* L.) contaminées aux POP dont les polychlorobiphényles, Université de Lorraine et de la Faculté des Sciences de Bizerte, death induced by microtubule dysfunction in a Parkinson's disease model. *J Cell Biol* 2011 ; 192 : 873-82.

**Duzguner V, Erdogan S, 2010.** Acute oxidant and inflammatory effects of imidacloprid on the mammalian central nervous system and liver in rats. *Pest BiochemPhysiol* 97:13–8.

**Ekaluo UB, Ibiang YB, Ikpeme EV, Ekanem BE, 2013.** Effect of Deltamethrin and Ridomil on Sperm Parameters and Reproductive Hormones of Male Rats. Doi : 10.1007/s13530-013-0149-6

**EL Mrabet, 2006.** K, thèse de doctorat. Paris.

**Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM ,1961.** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholine esterase activity. *Biochem Pharmacol* 7(88).

**Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jungens G, 1992.** the role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med* 13: 341

**Fanny Louat, 2022.** Etude des effets liés à l'exposition aux insecticides chez un insecte modèle, *Drosophilamelanogaster*, Université d'Orléans,

**Ferrat L., Pergent Martini C. et Roméo M, 2003.** Assessment of the use of biomarks in aquatic plants for the evaluation of environmental quality: Application to sea grasses. *Aquatic. Toxicol.* 65: 187-207.

**Fethi B , Issam C, 2013.** Effects of sub-chronic exposure to coinjection of Deltamethrin and Methyl Linoleate on gonads. Doi: 10.1007/s00580-012-1673-5

**Friedman J, R J. Nunnari, 2014.** Mitochondrial form and function. *Nature*, 505(7483):p. 335-43 .

**Galal MK, Khalaf A, Ogaly HA, Ibrahim MA, 2014.** Vit E attenuates neurotoxicity induced by deltamethrin in rats., *Neurotoxicity* 1-7

**Gasmi Salim, 2018.** Neurotoxicité de deux pesticides (Acetamipride et Deltamethrine) et la prévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat, Thèse Doctorat, Université de

**Gérald guillebaud, 2019.** Régulation énergétique de la fonction mitochondriale par ampk, l'université du québec à trois-rivières.

**Gray M W, Burger G, Lang B F et al, 2001.** The origin and early evolution of mitochondria. *Genome Biology.* 2(6): 1018.

**Grillet Jean-Pierre, Testud Françoise.** Insecticides. In Produits phytosanitaires.

**Guerrero Karen, 2005.** Organisation structurale et fonction métabolique des unités énergétiques intracellulaires (mitochondries) dans le muscle cardiaque et squelettique, université Grenoble I - Joseph Fourier école pratique des hautes études Paris,

**Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B,** Glutathione-S-transferase the first step in mercapturic acid formation. *Journal of Biology and Chemistry*, 1974.(249).p: 7130-7139.

**Henine S, Rouabhi R, Gasmi S, Amrouche A, Abide A, Salmi A, Toualbia N, Taib C, Bouteraa Z, Chenikher H, Boussekine S, Kebieche M, Aouimeur M, 2016.** Oxidative stress status, caspase-3, stromal enzymes and mitochondrial respiration and swelling of *Paramecium caudatum* in responding to the toxicity of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles. *Environ Health Sci* 8(2): 161-167.

**Isabelle Baldi, Sylvaine Cordier et al, 2019.** Pesticides : Effets sur la santé, institut national de la santé et de la recherche médicale, Paris, Intoxications aiguës et risques professionnelles . Paris : Editions Eska, 2007, p.75-165.

**Jacques Poirier,** «Le système nerveux central et périphérique : formation, fonction et rôle». association pour la recherche sur la sclérose en plaque.

**Jeschke P, Nauen R, Schindler M, Elbert A, 2011.** Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *J Agric Food Chem*;59:2897–908.

**Johns D R, 1995.** Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Mitochondrial DNA and disease. *The New England Journal of Medicine*. 333(10) : 638- 44.

**Johnson E, Deckwerth T, 1993.** Molecular mechanisms of developmental neuronal death. *Annu Rev Neurosci* 16: 31-46.

**kilanowicz A.N.N.A., sapota A.N.D.R.Z.E; darago A.D.A.D.** The role of glutathione in metabolism of selected dimethylanaphthalenes in rat , *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*. 16(3): 265 — 270.

**Kim KH, Kabir E, Jahan SA, 2017.** Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Sci Total Environ.* ;575:525-35.

**Kimura KJ, Komuta Y, Kuroda Y, Hayashi M, Kawano H, 2012.** Nicotine-Like Effects of the Neonicotinoid Insecticides Acetamiprid and Imidacloprid on Cerebellar Neurons from Neonatal Rats 7(2) 32-43,

**Ku C, Nelson-Sathi.S, Roettger M, Sousa FL, Lockhart PJ, Bryant D, Hazkani- Covo.E, McInerney JO, Landan G et Martin W F, 2015.** Endosymbiotic origin and differential loss of eukaryotic genes. *Nature* 524, 427–432.

**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*. Doi: 10.1007/s11356-016-6913-9.

**Laouamri Okba, 2006.** Cours de physiologie 1ere année chirurgie dentaire, Université Ferhat Abbas Sétif, Le système nerveux central, Formation initiale Paramédicale, mise en ligne :lundi 20 mars.

**Lee Y J, Lim S S, Baek B J, An J M et al. 2016.** Nickel (II)-induced nasalepithelial toxicity and oxidative mitochondrial damage. *Environ. Toxicol.Pharmacol.*(42).p:76-84.

**Lin MT, Beal MF, 2006.** Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nat* 787-95.

**Logan DC, 2006.** The mitochondrial compartment. *J. Exp. Bot.* 57, 1225–1243.

**Lombes A, Aure K, Bellanne-Chantelot C, et al, 2013.** Unsolved issues related to human

**Lonare M, Kumar M, Raut S, Badgujar P, Doltade S, et Telang A,2014.** Evaluation of imidacloprid-induced neurotoxicity in male rats: A protective effect of curcumin. *Neurochemistry international.*; 78: 122-129.

**Luft. R, Ikkos. D, Palmieri. G et al. 1962.** A case of severe hypermetabolism of nonthyroid originwith a defect in the maintenance of mitochondrial respiratory control: a correlated clinical,

**Lush MJ, Li Y, Read DJ, etal, 1998.** Neuropathy target esterase and a homologous Drosophila neurodegeneration-associated mutant protein contain a novel domain conserved frombacteria to man. *Biochem J* ; 332 : 1-4.

**Maiche R, Benoudina M, 2019.** Le rôle des antioxydants dans la lutte contre le stress oxydatif, Université de Mila.

**Margoum, 2021.** C.G-B. Thèse de doctorat Reims Champagne-Ardenne 2010 Maladies neurodégénératives, Approches médicales et technologiques au CEA,Mars.

**Martin W F, Garg S, Zimorski V, 2015.** Endosymbiotic theories for eukaryote origin. *Philos.Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 370, 20140330.

**Mesnager R, Antoniou MN, 2018.** Ignoring Adjuvant Toxicity Falsifies the Safety Profile ofCommercial Pesticides. *Front Public Health.* Jan 22;5:361.

**Morris R, 1984.** Developments of a water-maze procedure for studying spatiallearning in the rat. *Neurosci* 47-60.

**Mous Asma, 2016.** Segmentation des images IRM cérébrales par les techniques de classifications, mémoire de projet de fin d'étude pour l'obtention du Diplôme de Masteren

Signaux et Images en Médecine, Université Abou Bakr Belkaid, mitochondrial diseases. Biochimie. 100 : 171-6.

**Nishioka K, Vilarino-guell C, Cobb S A et al, 2010.** Genetic variation of the mitochondrial complex I subunit NDUFB2 and Parkinsons disease. Parkinsonism & Related Disorders. 16 : 686-687.

**Nunnari, Suomalainen A, 2012.** Mitochondria: in sickness and in health. Cell, 148(6): p. 1145-59.

**Rachidi Walid, 2011.** Les mitochondries : Description structurale et fonctionnelle, Université Joseph Fourier de Grenoble.

**Ramachandiran S, Hansen JM, Jones DP, et al, 2007.** Divergent mechanisms of paraquat, MPP+, and rotenone toxicity: oxidation of thioredoxin and caspase-3 activation. Toxicol Sci; 95 : 163-71.

**Richardson JR, Quan Y, Sherer TB, et al, 2005.** Paraquat neurotoxicity is distinct from that of MPTP and rotenone. Toxicol Sci ; 88 : 193-201.

**Rodrigues KJA, Santana MB, Do Nascimento JLM, Picanco-Diniz DLW, Maues, LAL, Santos SN, et Faro, L.R.F, 2010.** Behavioral and biochemical effects of neonicotinoid thiamethoxam on the cholinergic system in rats. Ecotoxicology and environmental safety, 73(1): 101-107.

**Romero A, Ramos E, Castellano V, Martínez MA, Ares I, Martínez M, Martínez-Larrañaga MR, Anadón A, 2012.** Cytotoxicity induced by deltamethrin and its metabolites in SH-SY5Y cells can be differentially prevented by selected antioxidants. Toxicol In Vitro 26: 823-830

**Rötig A, Munnich A. 2003.** Genetic Features of Mitochondrial Respiratory Chain Disorders. Journal of the American Society of Nephrology . 14(12) : 2995-3007.

**Rouabhi R, Djebbar H, Djebbar MR, 2009.** Toxic Effects of Combined Molecule from Novaluron and Diflubenzuron on Paramecium. Am-Euras. Journal of Toxicol Sci 74-80.

**Rouabhi R, Djebbar H, Djebbar MR, 2006.** Toxicity evaluation of flucyclozuron and diflubenzuron on the cellular model, Paramecium sp. African Journal of Biotechnology 045-048.

**Rustin P, Chrétien D, Bourgeron T, Gérard B, Rotig A, Munnich A, 1994.** Biochemical & mol investigation in respiratory chain deficiencies. Clin Chem Acta 35-51

**Seifert J, 2005.** Neonicotinoids. In: Wexler P, editor. Encyclopedia of toxicology. Paris: Elsevier; p. 196–200.

**Sikka S C, 2001.** Relative impact of oxidative stress on male reproductive function. Curren

Medicinal Chemistry. 8: 851-62.

**Simpson WM, Schuman SH.** Recognition and management of acute pesticide poisoning.

**Smeyne RJ, Jackson-Lewis V, 2005.** The MPTP model of Parkinson's disease. *Brain Res Mol Brain Res* ;134 : 57-66.

**Steeve H. Thany 1 , Pascal Reynier , Guy Lenaers, 2013.** Neurotoxicité des pesticides Quel impact sur les maladies neurodégénératives.

**Taylor R W et Turnbull D M, 2005.** Mitochondrial DNA mutations in humandisease. *Nature Reviews Genetics*. 6(5) : 389-402.

**Thibaut Burg, 2017.** Les maladies neurodégénératives, Alzheimer's Disease Education and Referral Center, adapté par Garrondo, traduit par Pascal Combemorel.

**Thorburn D R, Sugiana C, Salemi R et al, 2004.** Biochemical and molecular diagnosis of mitochondrial respiratory chain disorders. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1659 :121-8.

**Tomlin, C. D. S, 2006.** The International Union of Pure and Applied Chemistry(IUPAC) name is 1-(6-chloro-3- pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine and the Chemical Abstracts Service (CAS) registry number is 138261-41-3.

**Turrens J F, 2003.** Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *The Journal of Physiology* 552: 335-344. 1. SCHEFFLER I. 2008. *Mitochondria*. John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, New Jersey, États-Unis. ISBN : 0-4712-2389-1.

**Zeboudji B, 2005.** Mémoire de magister Ecole Nationale Polytechnique, Alger.

**Zhang J, Darley V, 2000.** Neurodegenerative Disease and Oxidative Stress 95- 111.

**Zimorski V, Ku C, Martin W F, Gould SB, 2014.** Endosymbiotic theory for organelle origins. *Curr. Opin. Microbiol.* 22, 38–48.

### Web graphie

<https://www.superprof.fr/ressources/scolaire/svtphotosvt13/configurationstructuretete.html>

PPDB <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/11.htm>

Neurosciences? Neuro-anatomie Organes de sens Sensibilité Vision - ppt télécharger

Alzheimer's Disease Education and Referral Center, adapté par Garrondo, traduit