



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ LARBI TEBESSI -TEBASSA-
FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES ET DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE APPLIQUÉE

Mémoire en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master L.M.D.

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Biologie Appliquée

Option : Toxicologie

**Etude des perturbations biologiques et comportementales chez un
modèle animale exposé au Fenthion**

Présenté par

Saaied Aicha

Moussa Rachida

Devant le jury

Mme Messaadia Amira	MCB	Université Larbi Tebessi Tebessa-	Présidente
Mr Gasmi Salim	MCB	Université Larbi Tebessi Tebessa-	Examineur
Mme Guedri Kamilia	MCA	Université Larbi Tebessi Tebessa-	Promotrice

Date de soutenance : 27/05/2021



Remerciement

Avant tout ELHAMDOLILLAH le tout puissant qui nous guidée tout au long de nos vie, qui nous donnée force, courage et patience incroyables pour passer tous les moments difficiles et a permis à ce travail de voir le jour malgré tous les obstacles que j'ai cru un jour insurmontables...

Alhamdulillah!

*Nous remercions **Dr Guedri Kamilia** de nous avoir supervisés dans la réalisation de ce travail, de leur Conseils et directions avisés du début de ce travail jusqu'à la fin, pour le sourire qui nous a accueillis et pour sa façon de simplifier les choses*

*Nous remercions le **Dr Gasmi Salim** d'avoir accepté d'être l'examineur du jury, Nous le remercions de sa gentillesse de sa patience au jour de la discussion de ce travail*

*Nous remercions **Dr Messaadia Amira** d'avoir accepté d'être la présidente du jury, Nous la remercions pour son aide, son humilité et son intérêt pour ce travail*

*Nous remercions **Melle Djaalali Ilhem** pour son aide et son sympathie en gardant un excellent souvenir dans l'animalerie et laboratoire*

*Nous remercions aussi **Madame CH. Karima** responsable de Laboratoire de Toxicologie et **Asma** pour leur aide précieuse et d'avoir mis à notre disposition tous les moyens nécessaires pour effectuer notre travail.*

Dédicace

Au nom d'Allah

Je dédie ce travail à mes chers parents :

*de leurs soutien et l'encouragement de leurs tendresse, de
leurs intérêt à ce travail je souhaite que le dieu les protège et
prolonge leurs vie*

A mon chère frère Maamar,

Ce que je le considère que mon bras droit

A ma petite sœur Rebia

Je la souhaite beaucoup de succès en complétant sa mémoire

A mon neveu Safi Eddine que je l'aime beaucoup

Pour ma binôme Rachida

*Et pour tous mes amis surtout Akila , Fatma , Ibtissem , Linda
, Sabah et Imen , et mes collègues de Toxicologie master02,
pomotion2020/ 2021*

Aicha

Dédicace

Tout d'abord, je remercie Allah, le tout puissant qui me ai données la force et la présence afin d'accomplir ce travail et facilite mon chemin dans cette vie

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents Mohamed tahar et Zina pour leur amour, leurs affections et pour le soutien dont ils m'ont toujours fait preuve tout au long de mes études.

A mes frères rahime, bilel, Khaled, mebarka, soraya, samira, chadia, nadia et naima qui m'a donné suffisamment de soutien et a été le plus grand soutien pour moi

A mes neveux sadjed et ghaith elrahmane que je l'aime beaucoup

A mon fiancé Mohamed et se tenir à côté de moi

A tous les membres de mes amisakila , fatma , ibtisam ,ilhem , linda

et

Ma binôme aicha

Et a tous les autres collègues de mon promotion Toxicologie

Rachida

المخلص

الفانثيون هو مبيد حشري فوسفوري عضوي يستخدم على نطاق واسع في الزراعة، ولكن مع ذلك، فإن التعرض لهذه الجزيئات يمكن أن يسبب اعراض بيولوجية وعصبية وسلوكية، الهدف من هذا العمل هو دراسة تأثير التعرض الزمن , ا لمدة 30 يومًا متتالية بجرعة 1.35مغ/كغ

على الاستجابات السلوكية العصبية وحالة الأوكسدة الخلوية وكذلك التغيرات المناعية والبيوكيميائية لدى الجرذان من .صنف ويستار .

أظهرت نتائجنا أن التعرض للفانثيون يسبب آثارًا ضارة على مستوى الكائن الحي وذلك يترجم بتدهور الحالة الصحية العامة للفئران (انخفاض في وزن الجسم وزيادة الوزن النسبي للكبد وانخفاض في وزن الدماغ)، ويؤدي إلى ظهور القلق، واضطراب في حاسة الشم ، وتدهور النشاط الاستكشافي والحركي الذي ارتبط بظهور الإجهاد التأكسدي الكبدي الذي كشف عنه انخفاض نشاط الجلوتاثيون س الناقل وزيادة مستويات المالونالدهيد .

كما ارتبط ظهور الإجهاد التأكسدي الكبدي و القلق بالتغيرات المناعية والبيوكيميائية التي كشفت عنها الاضطرابات في الكريات البيضاء، المؤشرات الايضية (الكولسترول الكلي، نسبة السكر في الدم) و نشاط الإنزيمات الكبدية. كما لوحظ أيضًا تأثير سلبي للفانثيون على الدماغ (انخفاض في نشاط إنزيم الأستيل كولين استراز .

يمكننا أن نستنتج أن مبيد الفانثيون يسبب الإجهاد التأكسدي الكبدي والاضطرابات السلوكية , المناعية و البيوكيميائية

.الكلمات المفتاحية: الفانثيون ، السلوك ، القلق ، الإجهاد التأكسدي ، الجرذ

ABSTRACT

Fenthion is an organophosphate pesticide widely used in agriculture, however, exposure to these pesticides can cause neurobiological and behavioral symptoms. The aim of this work is to study the effect of repeated exposure at a rate of 1.35 mg / kg/j of body weight for 30 consecutive days on behavioral responses, oxidative status as well as immune and biochemical changes in Wistar rats.

Our results have shown that the chronic exposition of Fenthion induces deleterious effects at the level of the organism translated by a deterioration of the general state of health of the rats (a reduction in body weight and an increase in the relative weights of the livers and decrease relative brain weight), and induces anxiogenic responses, and olfactory disturbance and deterioration of exploratory and locomotor activity which has been associated with the onset of hepatic oxidative stress revealed by decreased activity of glutathione-S -transferase (GST) and increased levels of malondialdehyde (MDA).

In addition, the onset of hepatic and anxio-oxidative stress has been associated with immune and biochemical variations revealed by the disturbance of the leukocyte profile (WBC, LYM, MON, GRA), metabolic (Total cholesterol, Glycemia) and activity. hepatic enzyme (ALAT, ASAT). A negative effect on the brain (decrease in acetylcholinesterase activity) was also observed.

We can conclude that this pesticide causes hepatic oxidative stress and behavioral and immuno-biochemical disorders.

Keywords: Fenthion, Behavior, Anxiety, Oxidative stress, Rat

RESUME

Le fenthion est un pesticide organophosphoré largement utilisé en agriculture, cependant, l'exposition à ces pesticides peut provoquer des symptômes neurobiologiques et comportementales . Le but de ce travail tend à étudier l'effet de l'exposition répétée à raison de 1.35mg/kg du poids corporel pendant 30 jours consécutifs sur les réponses comportementales, le statut oxydatif ainsi que les changements immunitaires et biochimiques chez le rat Wistar.

Nos résultats ont montré que l'exposition chronique du Fenthion induit des effets délétères au niveau de l'organisme traduits par une détérioration de l'état de santé général des rats (une réduction de poids corporel et une augmentation des poids relatifs des foies et diminution du poids relatif du cerveau), et provoque des réponses anxiogènes , et perturbation olfactif et une détérioration de l'activité exploratoire et locomotrice qui été associé au déclenchement d'un stress oxydatif hépatique révélé par la diminution de l'activité de la glutathion-S-transférase (GST) et l'augmentation du taux du malondialdéhyde (MDA).

En plus, l'apparition du stress hépatique et anxio-oxydatif a été associé à des variations immunitaires et biochimiques révélées par la perturbation du profil leucocytaire (WBC, LYM, MON, GRA), métabolique (Cholestérol total, Glycémie) et l'activité enzymatique hépatique (ALAT, ASAT). Un effet négatif cérébral (diminution de l'activité de l'acétylcholinestérase) a été également observé.

Nous pouvons conclure que le pesticide Fenthion est à l'origine d'un stress oxydatif hépatique et les troubles comportementaux et immuno-biochimique.

Mots clés : Fenthion, Comportement, Anxiété, Stress oxydatif, Rat

Table des matières

Remerciement

Dédicace

ملخص

Abstract

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction

Partie bibliographique

Chapitre 01 : généralité sur les pesticides

1. 1. Définition des pesticide.....3

1.2.Classification des pesticides.....3

1.3. Devenir des pesticides dans l'environnement.....4

1.4. Modes d'expositions aux pesticides.....5

1.5. Impacts sanitaires liés à l'exposition aux pesticides.....6

2.Les Organophosphorés7

2.1. Définition7

2.2. Structure et Propriétés physicochimiques d'organophosphorés.....7

2.3.Mécanisme d'action des organophosphorés7

2.4.Toxicité des organophosphorés8

chapitre 02 : le stress oxydatif

.1. Définition.....	13
2. Radicaux libres	13
3. Conséquences du stress oxydant.....	16
4.Système de défense antioxydants.....	17
Partie Expérimentale	
Matériel et méthode	
1.Matériels.....	21
1 . 1. Matériel biologique.....	21
1 . 2. Matériel Chimique:.....	21
1.3. Prélèvements.....	26
1.4. Etude des Paramètres hématologiques.....	27
1.5. Etude des paramètres biochimiques.....	28
1.6. Evaluation des paramètres du stress oxydant hépatique.....	30
1.7. Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) cérébral.....	32
1.8. Analyse statistique.....	32
2. Résultats.....	34
3.Discussion.....	43
4. Conclusion.....	51
Référence bibliographique	

Liste des tableaux

tableau	Titre	Page
1	intoxication sévère d'un insecticide organophosphoré	11
2	caractéristique du fenthion	22
3	Réactifs utilisés dans le dosage de cholestérole	29
4	Réactifs de travail	29
5	Variation du poids relatif du foie et du cerveau chez le lot témoin et traités	34
6	Variation des transaminases chez le lot témoin et traité	35
7	Variation de la glycémie et du cholestérol chez le lot témoin et traité	36
8	Variation du taux du malondialdéhyde et de l'activité de la glutathion-S-transférase (GST) au niveau hépatique chez le lot témoin et traité	37
9	Variation du profil leucocytaire chez les rats témoins et traités au fenthion	38
10	Variation des paramètres de l'OF chez les rats témoins et traités	38
11	Variation des paramètres de l' EPM chez les rats témoins et traités	39
12	Variation des paramètres de test de reconnaissance olfactif chez le lot témoin et traités.	40
13	Variation de l'activité cholinestérasique cérébrale chez les rats témoins et traités	41

Listes des figures

figure	Titre	page
1	modes d'exposition des organismes vivant aux pesticides	5
2	la structure générale de la fenthion	10
3	Mécanisme de production des EROs et ERNs	15
4	Stratégie du lutte des antioxydants contre le stress oxydant	18
5	les animaux de l'expérimentation	21
6	Photo personnel du Fenthion	21
7	Illustration schématique de l'expérimentation	23
8	Dispositif utilisé dans PM	24
9	Dispositif utilisé dans l' OF	25
10	Dispositif utilisé dans le test olfactif	26
11	Prélèvement du veine retro-orbitale	26
12	Prélèvement des organes	27
13	Un automate d'Abacus 380 à 19 paramètres	27
14	Courbe standard pour le calcul d'MDA	31
15	Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovine	32
16	Variation du poids corporel chez rats témoins et traités au fenthion	34
17	Variation du poids relatif du foie et du cerveau chez le lot témoin et traité	35
18	Variation des transaminases chez le lot témoin et traité	36
19	Variation de la glycémie et du cholestérol chez le lot témoin et traité	37
20	Variation du taux du malondialdéhyde et de l'activité de la glutathion-S-transférase (GST) au niveau hépatique chez le lot témoin et traité	39
21	Variation des paramètres de test de reconnaissance olfactif chez le lot témoin et traités	41
22	Variation des paramètres de l'OF chez les rats témoins et traités	42

Liste des abréviations

Ache : acétylcholinestérase

ALAT : Alanine aminotransférase

ASAT : Aspartate aminotransférase

BSA: Bis (triméthylsilyl) acétamide

CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

COX : les cyclo-oxygénases

DDT: Dichloro-diphényl-trichloro-éthane

DJA : dose journalière admissible

DO: Densité optique

DTNB : Acide 5,5'-dithio-bis-2- nitrobenzoïque (réactif d'Ellman)

DL50 :dose létale 50

EDTA : Acide éthylène diamine tétracétique

EROs: espèces réactifs à l'O₂

ERNs: espèces réactif à l'azot(N)

FNS :La formule de numération sanguine

GR : globule rouge

GB: globule blanc

GSH : Glutathion réduit

GST : glutathion s transférase

GRA : granulocyte

HAPs : Hydrocarbure Aromatique Polycyclique

HB: hémoglobine

HCH: Hexachloro-cyclo-hexane

HT: hématocrite

IOP : insecticides organophosphorés

LYM : lymphocyte

MON : monocyte

MDA:malone-dialdehyde

NTE:Neuropathy target esterase

OF: open field

OMS : organisation mondiale de santé

PCBs : Poly-chloro-biphényle

PLT: plaquettes

POPs : polluants organiques persistants

PM : Place Mase

R40 : possibilité d'effets irréversible

SN : sciure nid

SP : sciure propre

TBA : acide Thio barbiturique

TCA : acide trichloracétique

VGM: volume globulaire moyen des hématies

Introduction

INTRODUCTION

Il existe un grand nombre d'organismes vivants nuisibles aux végétaux, aux animaux mais aussi à l'égard de l'homme et des bâtiments d'élevages et d'habitation. Beaucoup d'activités sont confrontées à ces organismes mais les activités agricoles sont probablement parmi les plus exposés et donc demandeuses de moyens de prévention et de lutte. Ces moyens sont très variés et vont des mesures prophylactiques, aux traitements chimiques généralisés en passant par des interventions mécaniques, des interventions biologiques et des traitements chimiques localisés (**Séverin, 2002**). De nombreuses substances chimiques sont ainsi utilisées, ce sont les pesticides. Leur composition et leur structure sont très variées, de sorte que leurs propriétés physiques, chimiques et biologiques le sont aussi, ce qui explique leurs multiples usages, leurs dangers, ainsi que les difficultés rencontrées pour décrire et prévoir leur devenir dans les sols (**Calvet et al., 2005**).

Les organophosphorés (OP) sont des toxiques létaux, à action systémique prédominante. En raison de leur absence d'accumulation dans l'organisme, les OP sont utilisés à large échelle depuis 1935 comme insecticides (IOP) (**Saïssy et Rüttimann, 1999**).

La fréquence des intoxications par les IOP est en progression constante. Selon l'OMS son incidence dans 19 pays asiatiques était évaluée en 1972 à 500 000/an avec une mortalité en 1981 à 750 000, et en 1983, à 2 000 000 avec une évolution fatale dans 40 000 cas. Aux États-Unis, sur 36 541 cas d'intoxication par insecticides/pesticides déclarés aux centres anti-poisons en 1986 (**Litovitz et al., 1986**). Le fenthion (thiophosphate o-(méthylemercapto-4-méthyl-3-phényl) o,o-diméthyl) est un insecticide organophosphoré à effet rémanent mis au point par (**Schrader, 1960**); il fait ses preuves dans la lutte contre les moustiques anophèles vecteurs du paludisme. (**Francis et Barnes, 1962**), le fenthion est considéré comme la méthode la plus efficace pour préserver les céréales (blé, sorgho et millet) (**Testud et Bougon, 2009**).

La valeur de la liaison, à l'intérieur d'un même test, entre des paramètres d'activité ou d'exploration chez le rongeur (redressements, locomotion...) est fonction du type de situation étudié et des paramètres pris en considération (**Soubrié, 1971**).

Nous rapportons ici comment, des réactions comportementales voisines, apparaissant dans un test simple que nous avons mis au point, peuvent subir, en fonction des doses, des

modifications de sens opposé, après administration à l'animal de certaines substances **(Thiébot et al., 1973)**.

Le stress oxydatif causé par les espèces réactives à l'oxygène (ROS) a été rapportée dans la peroxydation lipidique membranaire, les dommages à l'ADN, la mutagenèse et a été associé aux différentes étapes du processus de formation de la tumeur **(Sidhu et al., 2014)**. Le stress oxydatif peut survenir lorsqu'il existe un déséquilibre entre la production de ROS et les défenses anti-oxydantes **(Victor, 2013)**.

Dans notre étude nous nous sommes intéressés à étudier l'effet perturbateur du fenthion sur un modèle biologique les rats "Wistar" au niveau neurocomportementale, hématobiochimique et biologique suite à une exposition orale répétée pendant 30 jours, Pour atteindre cet objectif, ce mémoire est divisé en deux parties:

➤ Une partie bibliographique dans laquelle seront rapportées certaines informations de base nécessaires pour la compréhension du travail expérimental.

➤ Une partie expérimentale expliquant le matériel utilisé et la méthodologie adoptée ainsi que la présentation des résultats et leur discussion.

Synthèse
Bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les pesticides

1. Les Pesticides

1.1.Définition

Le terme "pesticide" est une appellation générique couvrant toutes substances ou produits utilisés dans l'agriculture et dans d'autres secteurs pour combattre les prédateurs des cultures, des produits agricoles ou encore pour protéger les espaces publics contre les insectes, les végétaux, les animaux ou les micro-organismes nuisibles (**Stachowski-Haberkorn ,2008**). La diffusion de ces composés chimiques dans l'environnement par contamination de l'air, le sol, l'eau et les produits alimentaires provoque l'exposition continue des organismes vivants d'une manière tant aigue que chronique à des risques de toxicité susceptible d'engendrer des diverses pathologies (**Toumi, 2013 ; panday et Mohanty, 2015**).

1.2.Classification des pesticides

Les pesticides peuvent être regroupés de manière différente selon l'aspect sous lequel ils sont étudiés. Ils peuvent être classés en fonction de leur cible, de leur structure chimique, de leur persistance dans la nature, de leur mode ou mécanisme d'action (**Guler et al., 2010 ; Djeffal, 2014**). La classification reposant sur le mécanisme d'action présente un intérêt moindre car des pesticides de structures chimiques différentes peuvent avoir des mécanismes d'action similaires ; c'est le cas par exemple des organophosphorés et des carbamates (**Guler et al., 2010 ; Mohajeri et al.,2011**). De plus, le mécanisme d'action de certains pesticides n'est pas complètement élucidé (**Testud et Grillet, 2007**). Donc, il y a beaucoup des critères de classement pour les pesticides, parmi ces critères nous citons les suivants :

1.2.1.Selon leur cible

D'après leur cible, les pesticides sont divisés en herbicides désignés pour tuer les mauvaises herbes ; en insecticides pour combattre les insectes ; en fongicides qui luttent contre les champignons ; en acaricides pour tuer les acariens ; en hélicides ou molluscicides pour éradiquer les nématocères ; en rodenticides ou raticides pour combattre les rongeurs vertébrés (**Guler et al., 2010 ; Toumi, 2013 ; Utip et al., 2013**).

1.2.2.Selon leur structure chimique

D'après la nature chimique de la substance active, les pesticides peuvent être des organochlorés, organophosphorés, organostaniques, carbamates, benzimidazoles, triazoles, pyréthriinoïdes de synthèse, néonicotinoïdes, pyrimidines et autres (**Testud et Grillet, 2007 ; Guler et al., 2010**).

1.2.3.Selon leur persistance dans l'environnement

Les pesticides sont classés en deux types principaux

- **Les pesticides conservatifs (persistants)** : qui ne sont pas éliminés du milieu, qu'ils soient dissous dans l'eau ou fixes sur le matériel particulaire. Ce sont des pesticides organiques non biodégradables (**Belhaouchet, 2014**). La classification de Polluants Organiques Persistants (POPs) regroupe tous ces polluants conservatifs tels que les HAPs, PCBs, dioxines, furans, dieldrine, chlordane, DDT, HCH, lindane, endrine, aldrine, Mirex, toxaphene, chlordeone, heptachlore. La production et l'utilisation de ces pesticides ne sont pas autorisées par plusieurs conventions internationales à cause de leur risques sur l'homme et l'environnement (**Ademe, 2004 ; Toumi, 2013 ; Utip et al., 2013**).

- **Les pesticides non conservatifs (non persistants)**: qui à terme, disparaissent dans peu de temps à cause de leur biodégradabilité rapide tels que certains OP, pyréthriinoïdes, néonicotinoïdes et biopesticides (**Belhaouchet, 2014**).

1.3. Devenir des pesticides dans l'environnement

Malgré un souci croissant de protection de l'environnement, lors de l'utilisation des pesticides, une certaine quantité de ces substances se retrouve dans l'environnement (**Pimentel, 1995 ; Arias-Estévez et al., 2008**) voies de dispersion et de transfert de pesticides sont nombreuses. Les gouttelettes de ces produits peuvent atteindre directement le sol sans être stoppées par le feuillage, ou alors indirectement, lorsque la pluie va lessiver les gouttelettes, non encore absorbées par les feuilles (**Belhaouchet, 2014**). Les pesticides peuvent être entraînés par dérive loin des zones de culture visées ou être directement volatilisés vers l'atmosphère lors de leur pulvérisation (**Toumi, 2013**). La présence de polluants constitue un stress induisant des modifications au niveau physiologique et métabolique dans l'organisme (**Timbrell, 1994**) ce dernier peut réagir par des réponses mécanistiques limitant les effets toxiques des contaminants en protégeant les cellules et en facilitant leur excréation. Bien que les mécanismes de défense cellulaire soient actuellement

mieux connus, il est cependant nécessaire de les approfondir en raison notamment des interactions existant entre les xénobiotiques présents simultanément dans le même milieu (Testud et Grillet, 2007 ; Guler et al., 2010).

1.4. Modes d'expositions aux pesticides

Les pesticides sont utilisés, non seulement dans l'agriculture, mais aussi dans divers secteurs (industries, collectivités territoriales) ainsi qu'en usage domestique et vétérinaire. Des problèmes de résidus dans les légumes, les fruits etc..., sont aussi mis en évidence (Belhaouchet, 2014). Les pesticides peuvent contaminer les organismes vivants via multiple voies d'exposition (figure 01). En effet, ces polluants pouvant pénétrer dans l'organisme par contact cutané, par ingestion des matrices alimentaires contaminées et encore par inhalation de l'air pollué (Utip et al., 2013). La grande variété de produits rend difficile l'évaluation des expositions chez les populations, qu'il s'agisse de la population exposée professionnellement (agriculteurs ou manipulateurs), ou de la population générale (Bourbia, 2013)

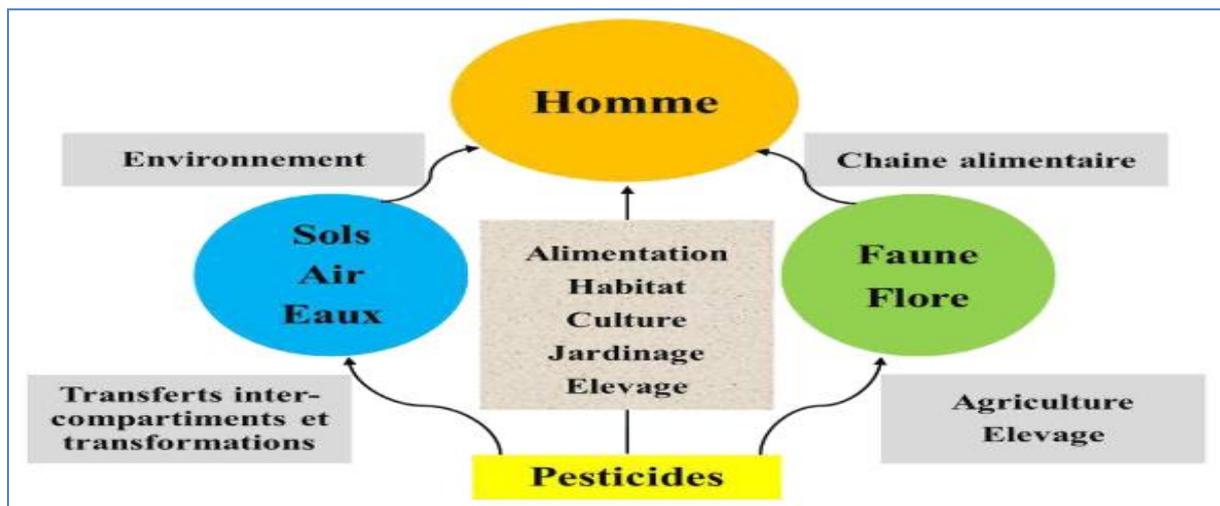


Figure 01 : Modes d'exposition liés à l'exposition aux pesticides(Gasmi.,2018)

1.5. Impacts sanitaires liés à l'exposition aux pesticides

1.5.1. Effets de l'exposition in utero et chez les enfants en bas âge

1. Un poids et une taille réduits à la naissance et des malformations congénitales
2. Un quotient intellectuel plus faible
3. Des modifications du comportement
4. Une incidence plus importante de la leucémie et d'autres cancers
5. Une incidence plus importante de fausse couche

Des impacts négatifs sur la santé ont été reportés chez des enfants dont les mamans ont travaillé avec des pesticides pendant la grossesse, mais les effets sanitaires de l'exposition aux pesticides sont également inquiétants pour le reste des enfants, qu'ils vivent dans des zones agricoles ou urbaines (**Greenpeace, 2015**).

1.5.2. Les effets des pesticides sur le système nerveux

De nombreux pesticides, particulièrement les insecticides, sont conçus spécialement pour attaquer le système nerveux des nuisibles. C'est pourquoi ces substances peuvent également être neurotoxiques pour les animaux non ciblés, dont, dans certains cas, les hommes et autres mammifères (**Bjørning, 2008**). Les effets sur le développement neurologique d'une exposition significative aux pesticides chez les enfants ont fait l'objet de nombreuses études. Le lien avec certaines maladies neurodégénératives tels que la maladie de Parkinson (**Errami ; 2012**), chez les adultes est moins connu, mais il semble que leur développement peut être dû à une combinaison de facteurs environnementaux et de prédisposition génétique. Bien que la vieillesse constitue sûrement le facteur de risque le plus élevé, l'exposition à de petites doses de pesticides à long terme a été identifiée parmi les facteurs. (**Aiche, 2017**).

1.5.3. Impacts sur le système Immunitaire

un phénomène mécaniquement possible chez l'homme, et qui pourrait mener à une augmentation de l'hypersensibilité à certains produits chimiques (immunostimulation), ou, dans certains cas, à l'immunosuppression, particulièrement chez les enfants (**Corsini et al., 2013**). Par exemple, certains éléments indiquent que l'exposition à différents produits chimiques agricoles sur le lieu de travail pourrait être liée à un asthme chronique ou allergique, ou à des rhinite allergiques, bien que les résultats soient peu concluants (**Corsini et al., 2013**). Les maladies auto-immunes qui pourraient être potentiellement liées à l'exposition aux pesticides dans le cadre professionnel et domestique chez les femmes ménopausées comprennent notamment l'arthrite rhumatoïde et le lupus érythémateux systémique (**Aiche, 2017**).

1.5.4. Effets sur la reproduction

Actuellement, il est envisagé qu'une exposition à des pesticides possédant la propriété de perturbateur endocrinien puisse être à l'origine d'effets adverses tels que des atteintes de la fonction reproductrice chez l'homme (**Errami ; 2012**). L'étude menée par (**Clementi et al., 2008**) semble montrer que vivre en milieu rural, où de grandes quantités de pesticides sont appliquées, augmente le risque d'infertilité.

1.5.5. Effets s cancérogènes des pesticides

Dans plusieurs études épidémiologiques une association significative avec l'utilisation des pesticides a été retrouvée pour certaines localisations tumorales telles que les cancers des lèvres, de la prostate, de l'estomac, des reins, du cerveau, mais également la plupart des cancers du système hématopoïétique (leucémies, myélomes multiples) , le mélanome cutané et les sarcomes des tissus mous(Van Leeuwen *et al.*, 1999; Blair *et al.*, 2001; Buzio *et al.*, 2002; Hardell *et al.*, 2002; Hu *et al.*, 2002; Mills and Yang, 2003; Alavanja *et al.*, 2004; Baris *et al.*, 2004; McCauley *et al.*, 2006; Van Maele-Fabry *et al.*, 2006; Provost *et al.*, 2007).

1.5.6.Effets sur l'environnement

Les pesticides peuvent avoir des effets directs sur les écosystèmes des zones d'application. Ainsi, la fertilité des sols peut être ébranlée à travers la diminution voir la disparition de certaines populations comme celles des lombrics (CPP, 2002).

Le cas des populations d'oiseaux illustre la possibilité d'impacts indirects des pesticides, notamment via la raréfaction de la ressource alimentaire (Aubertot *et al.*, 2005).

Les impacts négatifs peuvent se répercuter tout au long d'une chaîne alimentaire. Ainsi, les propriétés phytotoxiques des pesticides peuvent entraîner la destruction du phytoplancton et briser la chaîne trophique, cette microflore étant essentielle au maintien de la fertilité du milieu (Errami, 2012).

L'atmosphère est un important vecteur de dissémination des produits phytosanitaires. L'exposition via l'air concerne en principe les résidus secs et humides, ces derniers représentant probablement une voie majeure comparativement aux résidus secs ((Errami , 2012)

2.Les Organophosphorés

2.1.Définition

les insecticides organophosphorés (OP) sont des composés dans lequel un atome de phosphore est lié à une molécule qui contient du carbone et de l'hydrogène, ils appartiennent à la famille chimique des anticholinestérasiques (Damien *et al.*, 2010).

Les insecticides organophosphorés sont des agents chimiques toxiques qui agissent par inhibition des cholinestérasés. Ce sont les plus employés dans le monde. Depuis la seconde guerre mondiale, plus de cent composés différents ont été commercialisés. En raison de leur disponibilité facile en milieu rural, de leur forte toxicité et de leur action rapide, ils provoquent de nombreux cas d'intoxications accidentelles estimées à 3 millions de cas par an

et responsables de 220 000 morts sur la planète. Ils sont également utilisés parfois à des fins suicidaires (**Jean et Pascal , 2009**).

2.2. Structure et Propriétés physicochimiques d'organophosphorés

Les pesticides organophosphorés, dont la formule générale est présentée dans la figure 1, sont des esters, des amines ou des dérivés thiols de l'acide phosphorique ou phosphonique. Les groupements R1 et R2 peuvent être des alkyles ou des aryles et X est un groupe hydrolysable aliphatique, aromatique ou hétérocyclique. En général, ils sont des composés solubles dans l'eau. En milieu alcalin, ils sont rapidement hydrolysés et oxydés en acide (thio) phosphorique ou (thio) phosphonique (mono- ou di-substitué) (**Turdean et al., 2011**).

2.3. Mécanisme d'action des organophosphorés

L'action des pesticides organophosphorés sur les insectes et les mammifères se situe au niveau du système nerveux.

Ces substances toxiques inhibent l'acétylcholinestérase (Ache), entraînant une accumulation d'acétylcholine dans les tissus nerveux. Au niveau des synapses cholinergiques, cette inhibition est due au blocage du site estérique de l'enzyme (phosphorylation du OH de la sérine du site actif) par les composés organophosphorés, qui agissent en compétition avec le substrat spécifique de l'enzyme. Cette fixation conduit à la formation de complexes intermédiaires de type phosphoryl- ou carbamylAChE, qui s'hydrolysent très lentement. L'accumulation de l'acétylcholine due à l'inhibition de l'Ache peut avoir des suites graves : maladies ou même la mort (**Turdean et al., 2011**).

2.4. Toxicité des organophosphorés

2.4.1. Intoxications aiguës

a. Effets muscariniques

- troubles gastro-intestinaux, augmentation du péristaltisme
- hypersécrétions (sueur, salive, larmoiement, hypersécrétion bronchique et pancréatique, mictions involontaires, etc.)
- dyspnée asthmatiforme, simulant un œdème aigu du poumon
- myosis ;
- bradycardie et hypotension (**Viala et Botta, 2007**).

b. Effets nicotiniques

- de l'asthénie
- des fibrillations musculaires, des crampes
- des convulsions

-une paralysie gagnant rapidement les muscles respiratoires

L'atteinte nerveuse centrale se déclare par la suite, avec :

-état confusionnel, anxiété, céphalées, ataxie

-coma avec convulsions

-troubles respiratoires qui conduisent à la cyanose, à l'anoxie et parfois à la mort par arrêt respiratoire (**Viala et Botta , 2007**).

2.4.2.Intoxications chroniques

Chez les hommes, les effets à long termes sont discutés, notamment autour de l'exposition chronique des professionnels, chez qui certains auteurs aurait notés des troubles neuropsychiques (asthénie, céphalées, baisse de l'attention et de mémoire ...) (**Damien et al ., 2010**).

Certains pesticides organophosphorés sont capables de se lier d'une façon spécifique à des protéines au niveau du cerveaux et du thymus. Ces propriétés pourraient être à l'origine de leurs effets neurotoxiques et immunotoxiques à long terme(**Carter et al .,2007**).

La répétition des expositions aux organophosphorés peut entrainer, du fait de la lenteur de la régénération spontanée des cholinestérases, des signes d'intoxication, à type de :

-neuropathies périphériques, où serait impliquée la NTE.

-manifestations neurologiques , portant sur la modification du comportement , de l'affectivité, de la mémoire , de la vigilance

-altération électromyographiques

Il n'y aurait pas d'effet tératogène chez les femmes exposées (**Viala et Botta ,2007**).

2.4.3.Toxicocinétique : le système ADME

a. Absorption

Les OP semblent être absorbés facilement par toutes les voies , notamment la voie cutanée en milieu professionnel, mais aussi digestive, respiratoire (aérosols, poussières) et oculaire .

La transformation rapide ne permet pas vraiment de quantifier l'absorption surtout avec la variabilité des molécules , l'absorption par inhalation serait aussi rapide et importante (**Damien et al.,2010**).

b. Distribution

Après l'absorption , les op sont transportés par le sang vers les tissus. Les demi-vies plasmatiques des OP sont courtes et par conséquent les op s'accumulent peu dans les tissus .

toutefois, lors de nombreuses études , des concentrations importantes ont été retrouvées en particulier dans le cœur et la rate, mais aussi dans le sang , les urines, le cerveau, le foie, et les reins .des OPs ont aussi été retrouvés dans les tissus graisseux , avec un passage transplacentaire rapporté chez le rat et le mouton

Enfin, les données indiquent que les op peuvent être retrouvés dans les organes de reproduction humains , ce qui présente un risque d'interférence avec le processus de reproduction (**Damien et al., 2010**).

c. Métabolisme

Les OP sont transformés dans le foie , par différentes voies hépatiques . il ensuit détoxifiés par hydrolyse enzymatique , en donnant alors des métabolites spécifiques à chaque OP, mais aussi en grande partie des alkylphosphates, métabolites communs à de très nombreux OP (**Damien et al., 2010**).

d. Elimination

Les métabolites des op sont éliminés très largement dans les urines (à plus de 50%) , de façon rapide, mais aussi dans les fèces et par l'air expiré pour les op et leurs métabolites plus volatils (**Damien et al., 2010**).

2.4.4.Exemple sur les organophosphoré le Fenthion

2.4.4.1.Définition

Le Fenthion [O, O-diméthylque-o (4-méthylmercapto) - 3-méthylphenylthio-phosphate],La substance active de QueletoxW (testude) est unPesticide à base d'organophosphoré employé couramment Dans le monde entier comme large-spectre Insecticide pour de nombreuses récoltes et également en tant que ectoparasiticide pour des animaux de ferme (**Roberts et Hutson 1999**).

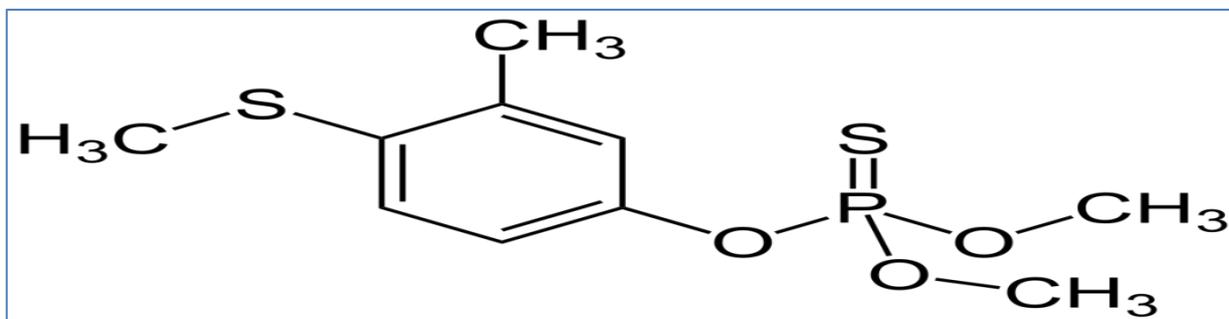


Figure 02 : La structure générale du Fenthion (Testud et Bougon, 2008)

2.4.4.2. Caractéristiques physicochimiques

Synonyme : mercaptophos, phosphorothioate de o,o-diméthyle o-(4-(méthylthio)phényle)

Formule brute : C₁₀H₁₅O₃PS₂

Présentation du produit technique : liquide huileux ,jaune-brunâtre, pratiquement non hydrosoluble (2mg/l à 20c) mai lipophile et très soluble dans les solvants organiques.

Tension de vapeur : 0.004 pa à 20c

Matière active plus homologuée en agriculture en France depuis juillet 2005

Classement : T(toxique), R40(possibilité d'effets irréversible)

Dose journalière admissible (DJA) : 0.007 mg/kg

Teneurs maximales autorisées en résidus : 0.02à1mg/kg selon le type de culture

2.4.4.3.Mécanisme d'action

Comme tout OP, le fenthion inhibe l'acétylcholinestérase(Ache), enzyme assurant l'hydrolyse de l'acétylcholine, neurotransmetteur du système nerveux central, du système nerveux parasymphatique et d'une partie du système sympathique. L'accumulation d'acétylcholine dans la synapse et au niveau de la plaque motrice est responsable des effets muscariniques, nicotiniques et centraux observés (Tab 1) (**Testut et Bougon , 2009**).

2.4.4.4. Toxicité

a. Toxicité aigue

La toxicité aigue de fenthion est importante :la DL50 par voie orale est comprise entre 180 et 295 mg/kg chez le rat, entre 88 et 145 mg/kg chez la souris ;elle est bien plus basse encore (1 à 5,6 mg/kg selon les espèce stestés) chez les oiseaux, d'où l'utilisation de cetOP comme avicide. En dépit de son coût et de ses impacts.

environnementaux (contamination des eaux, destruction des espèce non visées (**Testud et Bougon , 2009**).

Tableau 01 : Intoxication sévère d'un insecticide organophosphoré (Fenthion) (Testud et Bougon , 2009).

Système	Récepteurs	Organe ou tissu	action	Effet clinique
Parasympathique	Muscariniques	oeil , glandes lacrymales, salivaires et sudoripares cellules à mucus des voies respiratoires et du tube digestif	Contraction de l'iris et du muscle ciliaire sécrétion	Vision trouble , myosis , salivation , hypersudation bronchorrhée, oédème pulmonaire , vomissements, diarrhée
Sympathique	Muscariniques	Bronches et tube digestif Anus et vessie Cœur	Contraction du muscle lisse sphinctérien dépression du nœud sinusal et augmentation de la période réfractaire au niveau du nœud auriculo-ventriculaire	Bronchospasme, nausées, crampes et douleurs abdominales Incontinence fécale et urinaire Bradycardie, bloc auriculo-ventriculaire
Jonction neuromusculaire	Nicotiniques	Muscles squelettiques Cœur œil	Contraction Excitation relaxation de l'iris	Fasciculations, crampes, paralysies du diaphragme et des muscles respiratoires hypertension mydriase
Système nerveux central	Nicotiniques	Cerveau	Excitation dépression	Ataxie coma

Chapitre II : Stress oxydatif

1. Définition : Le stress oxydatif, dénommé également stress oxydant, résulte d'un déséquilibre de la balance « pro-oxydants/antioxydants » en faveur des oxydants, ce qui se traduit par des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaires : les lipides avec perturbations des membranes cellulaires, les protéines avec l'altération des récepteurs et des enzymes, les acides nucléiques avec un risque de mutation et de cancérisation. Un stress oxydatif peut donc se développer suite à une surproduction des oxydants comme les espèces activées de l'oxygène et/ou à une diminution des systèmes de défense antioxydants (**Sergent et al., 2000; Almasiova et al., 2012**).

2. Radicaux libres : Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié) occupant un orbitale externe (**Halliwell., 1989**), ce qui augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation (**Bonnefont-Rousselot et al., 2003 ;Finaud et al., 2006**). Sa durée de vie est très courte (quelques millisecondes voire quelque nanosecondes) et il est symbolisé par un point qui indique où l'électron libre se situe (**Goto et al., 2008**).

2.1. Type des radicaux libres : Les radicaux libres peuvent être formés par trois procédés (**Evans et al., 2002; Chavan et Melinkeri, 2013**)

-Addition d'un électron libre à un non radical: $NR + e \rightarrow R \cdot$ -Perte d'un électron par un non radical: $NR - e \rightarrow R \cdot$ -Scission homolytique d'une liaison covalente: $A-B \rightarrow A \cdot + B \cdot$. Il existe majoritairement deux grandes familles d'espèces réactives: les espèces réactives à l'oxygène (ERO) et les espèces réactives à l'azote (ERN).

2.1.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS Reactive Oxygen Species). Les "espèces réactives de l'oxygène" sont des dérivés de l'oxygène dont certains électrons se trouvent dans un état énergétique excité, donc (très) réactionnel. Certains de ces dérivés portent un électron non apparié (= radical libre) (**Tsumbuet al., 2012**). Les radicaux libres de l'oxygène incluent les radicaux libres comme l'anion super oxyde

Le radical hydroxyle ($OH \cdot$) et des composés réactifs oxydants non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'oxygène singlet (1O_2). A-Anion super oxyde ($O_2 \cdot^-$) L'anion superoxyde est formé par l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire (**Birbenet al., 2012**). C'est le premier radical formé lors du transport des électrons au niveau de la chaîne respiratoire (**Harman, 2000; Sisein, 2014**). Les différentes enzymes permettant cette réaction sont : la NADPH oxydase, la xanthine oxydase, les cyclo-oxygénases (COX), les lipo-

oxygénases, les oxyde nitrique synthases NOS (Nitric Oxyde Synthases), les enzymes du réticulum endoplasmique lisse (cytochrome P450) et celles de la chaîne de transport des électrons dans la mitochondrie (Cai et Harrison, 2000; (Birben et al., 2012).

B-Radical hydroxyle(OH)Les radicaux hydroxyles sont les radicaux libres de l'oxygène les plus réactifs qui peuvent réagir avec l'ADN, les glucides, les nucléotides, les protéines et sont à l'origine de lésions de nécrose (Favier, 2003). Il est certainement l'ERO la plus destructrice pour la cellule et ses composants. Malgré une durée de vie très brève et l'impossibilité pour lui de franchir les membranes, il possède une très grande réactivité liée à un potentiel oxydant très élevé (Robineau et al., 2012).

C-Oxygène singul et (1°O_2) : Il correspond à une forme excitée de l'oxygène O_2 , il possède la même structure électronique que l'oxygène mais 'agencée' différemment, à savoir que les électrons de la couche externe initialement non appariés se sont appariés. Il n'est donc pas radicalaire. Son état 'excité' lui confère un potentiel oxydant supérieur à celui de l'oxygène (Bonfont-Rousselot et al., 2003).

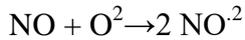
D-Radical peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) : Le radical H_2O_2 est très oxydant il est relativement stable. Il peut traverser les membranes lipidiques. Il est tout de même capable d'oxyder certaines macromolécules biologiques en interagissant avec des métaux de transition(fer et cuivre).L' H_2O_2 n'est pas un radical libre mais a la capacité de générer des radicaux hautement réactifs(Saoudi et al., 2011).Il est généré dans le peroxysome, les microsomes et les mitochondries par une réaction de dismutation (Ramirez et al., 2008).

E-Les radicaux peroxy ROO. Ils font plutôt partie de la « deuxième vague » d'ERO, dans la mesure où leur formation fait suite à une réaction d'oxydation d'acides gras polyinsaturés par d'autres ERO formées préalablement. La partie « R » correspond à un acide gras polyinsaturé. Leur formation comprend 2 étapes principales : la première (réaction 1) correspond à la perte d'un atome d'hydrogène causée notamment par un radical hydroxyl, et la seconde (réaction 2) à la liaison avec une molécule d'oxygène (Mc Michael.2007 ; Powers et Jackson. 2008).

2.1.2. Radicaux libres nitrogènes

A-Oxyde nitrique ($\text{NO}\bullet$; monoxyde d'azote) : Le monoxyde d'azote est un radical libre ubiquitaire synthétisé à partir de l'arginine grâce à l'action d'enzymesoxyde nitrique synthase (NOS) (Arora,2002).L'oxyde nitrique est un gaz qui ainsi diffuse bien à travers les membranes. Il est susceptible de réagiravec d'autres radicaux libres pour former des espèces oxydantes: le peroxy nitrite NO_3 (Ross et al, 2006; Kalender et al.,2010).

B-Dioxyde d'azote (NO₂) : C'est un polluant atmosphérique qui se forme à partir de la réaction du radical peroxyde avec le NO.



Le NO₂[·] attaque les doubles liaisons des acides gras non-saturés et transforme ces acides soit de cis-en trans, soit par nitration. Des lipoxygénases transforment l'acide arachidonique en eicosanoïdes (prostaglandines, leucotriènes ...etc), qui sont des messagers intra et extracellulaires indispensables. Ces réactions créent des radicaux libres. Comme le O₂^{·-}, NO₂[·] peut exister assez longtemps dans les espaces intra membranaires aprotiques (Sisein, 2014).

C-Peroxyde nitrite (ONOO⁻) : Le Peroxynitrite est un dérivé d'oxygène très toxique qui provoque des lésions tissulaires très graves en plus de l'oxydation des LDL. Le ONOO⁻ non radicalaire est instable (durée de vie <une seconde)(Ghafourifar et Cadenas,2005). Il est capable d'oxyder les protéines et les bases azotiques des brins d'ADN par une grande similarité de l'oxydation par le radical hydroxyle (Monocada, 1993). La réaction du NO avec l'anion superoxyde donne naissance au peroxynitrite.

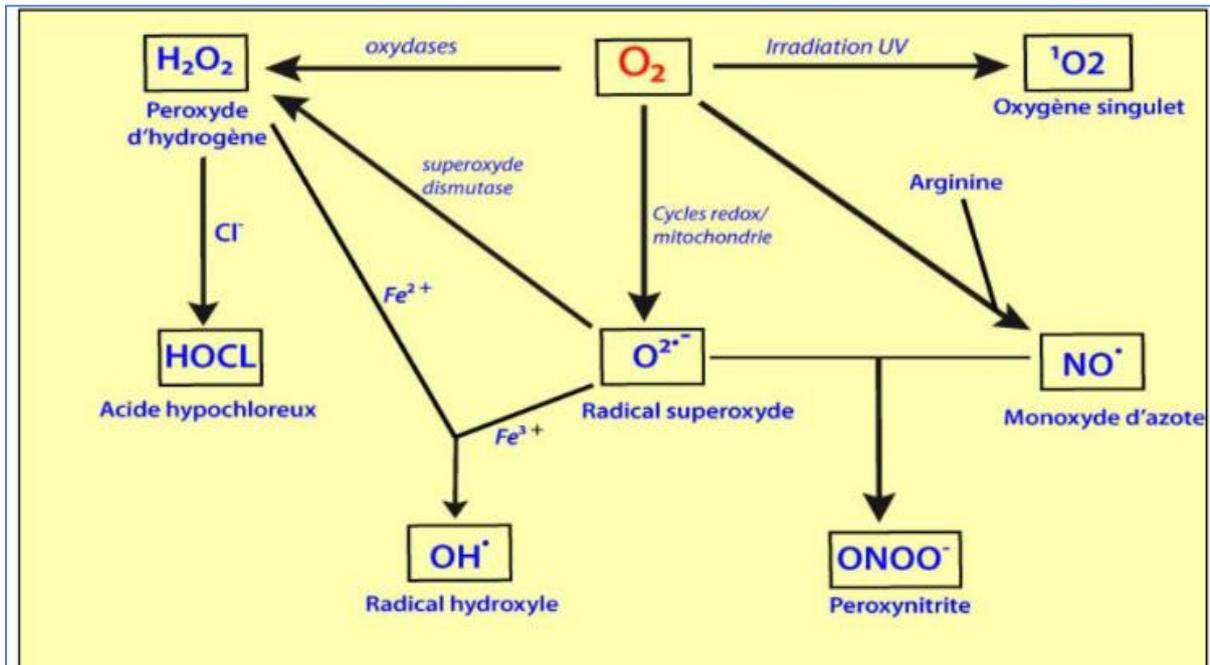
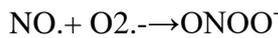


Figure 3: Mécanisme de production des EROs et ERNs (Boubali, 2017)

2.2. Origine des radicaux libres : Il existe deux origines possibles: endogène et exogène.

2.2.1. Origine endogène : Plusieurs sources sont identifiées et parmi lesquelles la chaîne respiratoire mitochondriale est considérée comme la source majeure des ERO. Au niveau de la membrane des mitochondries, les composés réduits issus du cycle de Krebs (NADH et FADH₂) sont oxydés, libérant ainsi de l'hydrogène (H⁺) et des électrons. Les électrons sont

transférés le long de la chaîne respiratoire au cours des réactions d'oxydoréduction jusqu'à l'accepteur final, l'oxygène, qui est réduit complètement en H₂O (**Carrière et al., 2006**). Les complexes I et III de la chaîne mitochondriale semblent être à l'origine de la fuite des électrons. Ainsi, compte tenu de l'intense activité de la chaîne respiratoire dans les organismes aérobies, la fuite des électrons d'origine mitochondriale semble être la source majoritaire d'EROs dans la cellule, devant les activités de la NADPH oxydase membranaire (**Moller et al., 1996; Tessier et Marconnet, 2015**).

Il y a d'autres sources endogènes physiologiques: Les NADP (H) oxydases sont des enzymes présentes dans la paroi vasculaire et qui génèrent l'O₂ en utilisant NADH ou NADPH comme substrat. L'enzyme xanthine oxydase joue un rôle important dans la production des ERO (particulièrement l'O₂⁻ et H₂O₂). Lors du métabolisme de l'acide arachidonique, ce dernier peut être oxydé soit par les cycles oxygénases (COX), soit par les oxygénases métallo-enzymes à fer pour former des hydro peroxydes (ROOH). La production d'oxydants par les neutrophiles et les macrophages (au cours de l'inflammation) est également une source importante qui dépend de l'activité enzymatique de la NADPH-oxydase. Les ERO peuvent aussi être produits par la NO synthétase (**Pincemail, 2002 ; Valko et al., 2006**).

2.2.2. Origine exogène : Les radicaux libres exogènes proviennent d'un apport extérieur, c'est-à-dire lors d'une exposition à un environnement toxique. Les rayonnements UV, l'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO₂) présents dans notre environnement (goudron, tabac...ect), l'ingestion d'alcool, La xanthine oxydase et l'aldéhyde oxydase peuvent oxyder le principal métabolite de l'éthanol, l'acétaldéhyde, avec production d'O₂⁻. D'autre part, l'éthanol stimule également la production d'anion superoxyde par induction de la synthèse des NADPH oxydase, NADPH cytochrome réductase et du cytochrome P450 (**Robineau et Mercier, 2012**), certains médicaments anticancéreux et antibiotiques sont responsables de la synthèse de radicaux libres (Basdevant et al., 2006).

3. Conséquences du stress oxydant : Les ERO réagissent avec les premières molécules qu'elles rencontrent. Elles ont comme cible les lipides, les protéines, les glucides et les acides nucléiques (**Gamet-Payrastre, 2011**).

3.1. Peroxydation lipidique : L'attaque des lipides concerne les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides Membranaires. Dans le premier cas, l'oxydation des lipides ou des lipoprotéines circulants aboutit à la formation des LDL oxydés qui peuvent être captés par les macrophages et former des dépôts lipidiques de la plaque d'athérome. Dans le second cas, l'attaque des phospholipides membranaires modifie la fluidité de la membrane et perturbe le fonctionnement des récepteurs et des transporteurs se trouvant à leur surface (**Favier, 2003**).

La peroxydation lipidique fournit ainsi une grande variété de produits, dont certains peuvent réagir avec les protéines et l'ADN. Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malonyldialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (4-HNE) ont été étudiés comme marqueur de la peroxydation lipidique (**Uzunhisarcikli et Kalender 2011; Bonnefont-Rousselot et al., 2003; Garait, 2006**).

3.2. Oxydation des protéines : A cause de leur abondance dans l'organisme, les protéines sont une cible importante des ERO. Les modifications oxydatives des protéines provoquent l'introduction d'un groupement carbonyle dans la protéine (formation de protéines carbonylées « PC ») (**Fetouiet al., 2010**). Ces réactions d'oxydation sont fréquemment influencées par les métaux de transition. Elles peuvent être classées en deux catégories : d'une part, celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne peptidique, et d'autre part, les modifications des peptides par addition de produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-HNE. Il s'ensuit plusieurs types de modifications : fragmentation de la protéine, oxydation des chaînes latérales des acides aminés et formation de liaisons croisées entre deux protéines (**El-Khawaga et al., 2012**). Ces modifications conduisent généralement à une perte de fonction catalytique ou structurale des protéines affectées (**Fetoui et al., 2010**) et deviennent généralement plus sensibles à l'action des protéases et sont donc éliminées.

3.3. Dommage de l'ADN : Les ADN nucléaires et mitochondriaux constituent une cible cellulaire importante. Les bases qui composent l'ADN, et particulièrement la guanine, sont sensibles à l'oxydation (**Grandjean, 2005**). L'attaque radicalaire peut être directe et entraîner l'oxydation des bases, engendrant un grand nombre de bases modifiées. Cependant le stress oxydant peut aussi attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose (**Favier, 2003**). En conséquence, l'attaque radicalaire est, en effet, à l'origine de cassures ou d'anomalies chromosomiques, susceptibles de favoriser la cancérogenèse et le vieillissement tissulaire (**Favier, 2011**).

3.4. Oxydation des glucides : Le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologiques, en présence de traces métalliques, en libérant des cétoaldéhydes, H_2O_2 et $OH\cdot$, qui entraîneront la coupure de protéines ou leur glycation par attachement du cétoaldéhyde (**Barnoud et al., 2007**).

4. Système de défense antioxydants : L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction d'ERO. Le terme d'antioxydant désigne toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat (**Halliwell, 1990**). Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur

origine (Delattre et al., 2005). Les stratégies de défense vis-à-vis du stress oxydant sont variées (figure 04), Deux catégories peuvent être distinguées : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques (figure 04) (Cadenas, 1989 ; Goudable et Favier, 1997).

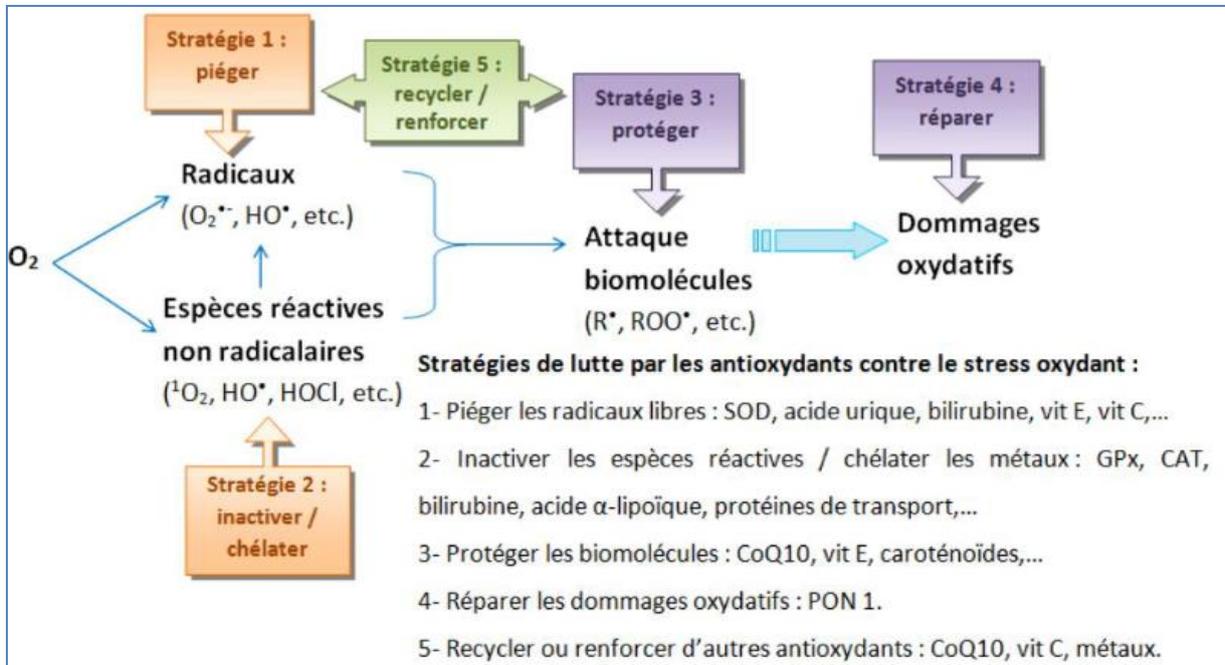


Figure 04 : Stratégies du lutte des antioxydants contre le stress oxydant(Grandjean, 2005).

4.1.Systèmes antioxydants enzymatiques

4.1.1.Superoxydes dismutases : Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. Chez l'homme, on décrit 3 isoenzymes ; la Cu/Zn-SOD cytosolique ; la Mn-SOD2 mitochondriale et la Cu/Zn-SOD3, qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire (Crapo, 1997; Pincemail et al., 2007; Zelko et al., 2002).

4.1.2.Glutathion peroxydase (GPx) : La glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme tétramérique permettant également la décomposition du H_2O_2 . Elles sont présentes dans le cytosol et la matrice mitochondriale (GPx-1), ou uniquement dans le cytosol (GPx-2), avec toutefois moins d'affinité pour l' H_2O_2 chez cette dernière, la seule dépourvue de sélénium (Mullenbach et al., 1988). D'autres isoformes peuvent être extracellulaires (GPx-3), ou

spécifiques de la membrane cellulaire (GPx-4) (Takahashi et al., 1987; Comhair et Erzurum, 2002). La GPx-4 est impliquée spécifiquement dans la réduction des peroxydes lipidiques. Les GPx permettent la décomposition de H₂O₂ par l'oxydation de son Co-substrat le GSH en GSSG qui sera réduit ensuite par l'action de la glutathion réductase (Pincemail et al., 2007; Reichel, 2010).

4.1.3. Catalase : La catalase (CAT) est une protéine ubiquitaire mais fortement concentrée dans le foie et les érythrocytes. Dans toutes les cellules des mammifères, à l'exception des érythrocytes, elle est localisée presque exclusivement dans les peroxysomes (riches en oxydases) ce qui limite son action par rapport à des peroxydases cytoplasmiques. La CAT est très efficace en présence d'un stress oxydant élevé et protège les cellules contre la production de l'H₂O₂ (White et al., 1989 ; Tsan et al., 1990) par le métabolisme de ce dernier résultant de l'action des SOD ou celui généré par l'action des oxydases pour donner de l'eau (Reichel, 2010 ; Wassmann, 2004).

4.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques

4.2.1. Antioxydants non enzymatiques liposolubles : Etant liposolubles, ils se répartissent au sein des membranes cellulaires et des lipoprotéines plasmatiques circulantes. On trouve dans cette catégorie : la vitamine E, les caroténoïdes et l'ubiquinol.

4.2.1.1. Vitamine E (α-tocophérol) : La vitamine E est une vitamine liposoluble qui existe sous huit dérivatifs et dont l'alpha-tocopherols est la forme la plus active chez l'être humain. Dû à son activité anti-oxydante puissante, elle a été considérée comme l'antioxydant membranaire majeur employé par les cellules. Son rôle antioxydant général est la protection contre la peroxydation lipidique (Belyagoubi, 2011). La vitamine E oxydée pourra être reconvertie principalement par la vitamine C, mais également par d'autres composés comme le GSH, la vitamine A et l'ubiquinol (Delattre et al., 2005).

4.2.1.2. Caroténoïdes (Vitamine A) : La vitamine A est un nom générique pour les rétinoïdes (rétinol, rétinol et acide rétinoïque) et les provitamines A ou les caroténoïdes (bêta-carotène, lutéines, lycopènes,...). Le β-carotène est le principal précurseur de la vitamine A. Il désactive l'oxygène singlet 1O₂, et piège les radicaux peroxydes ROO• (Goudable et Favier, 1997; Krinsky, 2014). En excès, elle pourrait agir comme pro-oxydants, et favoriser l'oxydation de l'ADN (Van Helden et al., 2009).

4.2.1.3. Ubiquinol (Coenzyme Q10) : Le coenzyme Q10 est un transporteur d'électrons présent dans la chaîne oxydative mitochondriale, dans les membranes cellulaires, dans le plasma et dans les lipoprotéines. Il est capable de donner des électrons et permet à ce titre une protection des membranes contre la lipoperoxydation (Powers et Jackson, 2008). Il assure

également un recyclage de la vitamine E, par réduction de la forme oxydée (**Ernster et Forsmark-Andree, 1993**).

4.2.2. Antioxydants non enzymatiques hydrosolubles : Ces antioxydants sont répartis dans le cytosol, le plasma et le milieu extracellulaire. On retrouve : la vitamine C, le glutathion, l'acide urique, la bilirubine et l'acide alpha-lipoïque.

4.2.2.1. Acide ascorbique (vitamine C) : La vitamine C ou acide L-ascorbique est hydrosoluble. Elle joue un rôle de prévention de l'oxydation dans le plasma et les fluides extracellulaires, dont elle est considérée comme le plus important antioxydant (**Koolman et Röhm, 2004**). Elle permet de piéger différentes ERO, et aussi de régénérer la vitamine E (**Duarte et al., 2007 ; Powers et Jackson, 2008**).

4.2.2.2. Glutathion : Le glutathion est un tripeptide, il joue un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation. En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant il résulte principalement de sa fonction de coenzyme des GPX. Le GSH intervient également dans le cycle de régénération de 2 vitamines antioxydantes : la vitamine E et la vitamine C (**Powers et Jackson, 2008; Douris et al., 2009; Jones, 2002**).

4.2.2.3. Acide Urique : L'acide urique comme produit final du métabolisme des purines (**Baillie et al., 2007**). L'acide urique est considéré comme un antioxydant car il piège l'oxygène singlet, les radicaux peroxy et hydroxyle (**Esterbauer et al., 1992; Staels et al., 1998**). La réaction de l'acide urique avec les oxydants entraîne la formation du radical urate, qui peut être alors réduit par l'ascorbate (**Stocker et Keaney, 2004**).

4.2.2.4. Oligoéléments : Les oligoéléments servent de cofacteurs aux enzymes antioxydants, ont aussi des propriétés antioxydantes. Des métaux tels que le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn) et dans certains micro-organismes le nickel (Ni) et le fer (Fe), jouent un rôle important en tant que catalyseur de la SOD. De la même façon le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont les éléments catalyseurs de la GPx et la catalase, respectivement (**De moffarts et al., 2005**).

4.2.2.5. Bilirubine : La bilirubine est le produit de dégradation des hèmes (ex : hémoglobine). Ses propriétés antioxydantes sont liées à sa capacité à lutter contre les radicaux peroxy ROO. et contre le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ (**Powers et Jackson, 2008**). Elle est alors transformée en biliverdine oxydée, qui sera recyclée grâce à la biliverdine réductase aux dépens d'une molécule de NADPH (**Neuzil et Stocker, 1993; Liu et al., 2006**).

4.2.2.6. Polyphénols : Les polyphénols végétaux regroupent une grande variété de composés comprenant entre autres les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins (**Delattre et al.,2005**). Ce sont des composés ubiquistes que l'on retrouve dans les plantes. Les actions biologiques des polyphénols ont été attribuées à leurs propriétés antioxydantes, que ce soit par leur capacité réductrice intrinsèque ou par leur influence sur le statut redox intracellulaire (**Vauzour, 2014**). En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices (**Delattre et al.,2005**).

Partie pratique

1. MATERIEL ET METHODES

1.1.1 Animaux d'élevage

Le matériel biologique de base dans notre étude est le rat blanc mâle et femelle *Rattus rattus* de la souche Wistar au nombre de 20 rats, provenant de l'institut Pasteur d'Alger âgés de 06 à 08 semaines pesant environ 220-260g.. Ces rongeurs sont des mammifères nocturnes, Il possède une large tête, de petites oreilles, des yeux rouges globuleux et une longue queue, Largement utilisés dans divers domaines de la recherche expérimentale



Figure 05: Les animaux de l'expérimentation (photo personnel)

1.1.2. Le Fenthion

Fenthion [O, O-diméthyl-0 (4-méthylmercapto) - 3-méthylphénylthio-phosphate] est l'un des OP le plus utilisé largement sur un grand nombre de culture contre les ravageurs dans plusieurs pays (**Krieger, 2001**), il inhibe l'acétylcholinestérase (Ache) (**Testud et Bougon, 2009**).

Dans ce travail, nous avons utilisé le fenthion pourchassée de Bayer Crop science (Lebaycid, 550g/L fenthion, East Hawthorn, Australia), Pour l'évaluation des paramètres biologiques nous avons utilisé des produits et des réactifs majoritairement provenant de sigma, Germany et Biochem, France.

-Caractéristiques physicochimiques

Formule brute $C_{10}H_{15}O_3PS_2$

Type de produit liquide huileux

Nature : lipophile

DL50 comprise entre 180 et 295 mg/kg chez le rat

Classement : T(toxique), R40(possibilité d'effets irréversibles)

1.2. Méthodes

1.2.1. Entretien des animaux

Les rats ont été répartis en deux (02) lots à raison de dix (10) rats par lot. Ils ont été soumis à une période d'adaptation de 15 jours dans l'animalerie de département de la biologie, La température ambiante est de 25°C et une photopériode naturelle 12/12H, %. Les rats sont élevés dans des cages en plastiques et ont un couvercle en acier inoxydable, munies de biberons d'une capacité de 250ml remplis d'eau, ces derniers sont tapissées d'une couche de litière renouvelés quotidiennement avant le début de l'observation. Les animaux ont été nourris par l'aliment de bataille.

1.2.2. Choix de la dose

Dans cette étude, nous avons utilisé un pesticide (Le Fenthion) à une faible dose de 1.35 mg/kg/j et administrées chroniquement par voie orale chaque jour pendant 30 jours. Le choix de ces doses est basé sur des études réalisées sur l'exploration de plusieurs doses.

Ainsi, deux lots de rats sont répartis comme suit: -

- 1^{ère} lot témoin : constitué de 10 rats recevant par gavage de l'huile de maïs (1 ml).
- 2^{ème} lot expérimental : constitué de 10 rats recevant par gavage de l'huile de maïs contenant x à une dose de 1mg/kg/j(DL50/100).

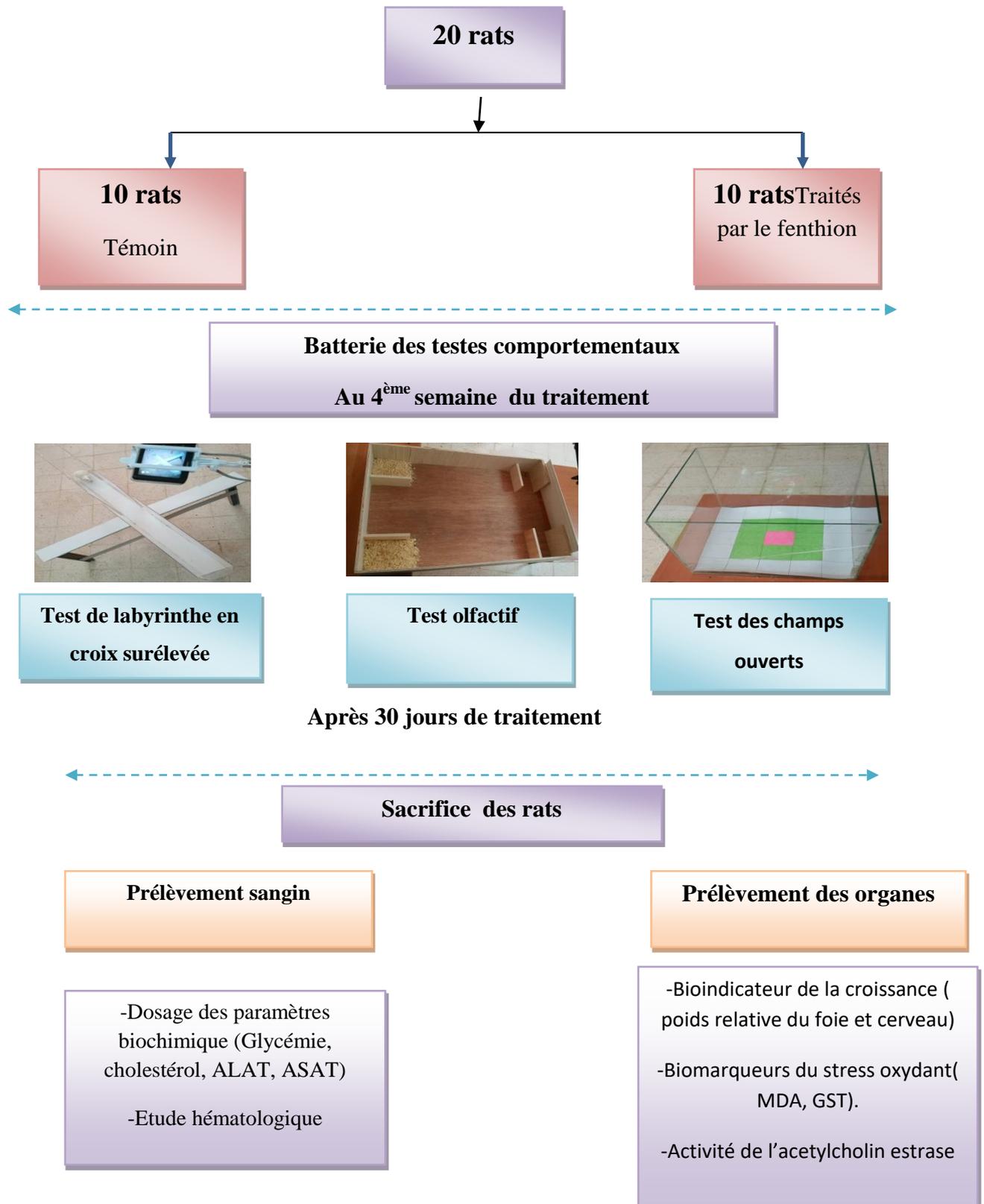


Figure 07: Illustration schématique de l'expérimentation

1.2.3. Etude comportementale

1.2.3.1. Teste de labyrinthe en croix surélevé (Elevated Place Maze)

L'EPM est un test largement étudié pour mettre en évidence les propriétés anxiolytiques ou anxiogènes des composés pharmacologiques. Le dispositif consiste en un labyrinthe surélevé ayant la forme d'une croix avec deux bras ouverts (50 × 10 cm) et deux bras fermés (50 × 10 × 45 cm). L'appareil se situe à une hauteur de 50 cm au-dessus du sol (**Patin et al ., 2005**). Chaque rat est placé individuellement au centre de l'EPM dirigé vers un des bras ouverts et son comportement en exploration libre est enregistré et examiné pendant 5 min. Une visite était comptabilisée lorsque le rat avait les quatre pattes dans un bras (**figure 08**) Le temps passé et le nombre d'entrée dans les bras ouverts et fermés sont mesurés. L'expérience exploite le conflit, chez les rongeurs, entre la peur des espaces ouverts et le désir d'explorer un nouvel environnement. Les bras fermés représentent une sécurité, alors que les bras ouverts offrent une valeur exploratoire. Un animal anxieux aura naturellement tendance à préférer les espaces clos et sombres par rapport aux espaces ouverts et éclairés. Ainsi, l'anxiété comportementale est mesurée par le degré d'évitement des espaces ouverts du labyrinthe. A la fin de chaque session, l'animal est retourné à sa cage et le dispositif est essuyé avec une solution alcoolique.

Les variables mesures sont : temps passé au centre, temps passé au bras ouverts, temps passé au partie distale et proximale du bras ouvert, nombre d'entrée au bras ouvert, temps passé au bras fermé, temps passé au partie distale et proximale du bras fermé, nombre d'entrée au bras fermé, nombre redressement.



Figure 08: Dispositif utilisé dans PM (photo personnel)

1.2.3.2. Test des champs ouverts (Open Field)

Le test de l'OF, initialement décrit par Hall (1934), a été développé dans le but de mesurer des différences de réactivités émotionnelles chez les rongeurs. L'OF permet donc d'évaluer les comportements ambulateurs ainsi que la néophobie environnementale des rats. Brièvement, l'OF est une unité en plexiglas (70 cm × 70 cm × 40 cm) dont le plancher est divisé en zones centrale et périphérique (**figure 09**) Chaque rat est placé individuellement au centre du compartiment et laissé pendant 5 min d'exploration (**Sáenz et al., 2006**).

Un animal anxieux au rat en dace à préférer la zone périphérique tout en évitant l'entrée dans la zone centrale. Chaque session est filmé, La distance totale parcourue, Le nombre de redressements, Le temps passé dans la zone centrale et périphérique et le temps d'immobilité sont mesurés. Le dispositif est essuyé après chaque session avec une solution alcoolique pour palier aux effets polarisants dus aux odeurs laissées par le rat précédent.



Figure 09: Dispositif utilisé dans l' OF(photo personnel)

1.2.3.3. Test de reconnaissance olfactif

Ce test nous permet d'évaluer la capacité des individus à reconnaître et à s'orienter vers les odeurs familières. Ils sont effectués dans un labyrinthe en T constitué d'une branche centrale (branche de départ) et de deux branches latérales fermées par des enceintes expérimentales. Ces dernières sont munies des portes amovibles et perforées permettant la diffusion des molécules odorantes. Les rats sont soumis à l'odeur provenant d'une enceinte de sciure propre et l'autre côté contient aussi la sciure nid (sciure propre x sciures nid) le rat reste dans labyrinthe 05min et entre chaque passage le dispositif sera nettoyé à l'alcool.

Deux paramètres sont pris en compte : on a le temps de latence qui est le temps nécessaire avant d'effectuer le 1er choix et on a le temps passé dans chaque type de sciures(**Dorbani et al,2014**).



Figure10:Dispositif utilisé dans le test olfactif (photo personnel)

1.3. Prélèvements

1.3.1. Prélèvement sanguin

Les prélèvements sanguins se font par ponction rétro orbitaire a l'aide des tubes hématocrites au 30^{ème} jours d'expérimentation pour les deux lots .le sang est immédiatement recueilli dans deux tubes étiquètes, l'un sec et l'autre contient l'héparine comme anticoagulant.

-Les tubes héparines serviront pour la détermination de la formule de numération sanguine (FNS).

-Les tubes secs sont centrifugés à 5000 tours/minute pendant 15 minutes, les sérums récupérés *dans les tubes eppendorf* serviront à la détermination des paramètres biochimiques (Glycémie, cholestérol totale, ALAT, ASAT).



Figure 11 : Prélèvement du veine retro-orbitale

1.3.2. Prélèvement des organes

A l'issue de la période expérimentale, les animaux sont sacrifiés par décapitation le foie et le cerveau ont été prélevé rapidement et rincer dans le tampon de lavage à froid (NaCl 9%), Puis séchés à basse température (4°C) par un papier semi absorbant et pèses a l'aide d'une balance de précision (SCALTEC SBC 51). Le poids relatif des organes est calculé selon la formule :

$$\text{Poids relatif (g /100gPV)} = (\text{Poids de l'organe/Poids corporel individuel}) \times 100$$



Figure 12 : Prélèvement des organes

1.4. Etude des Paramètres hématologiques

La formule de numération sanguine (FNS) a été réalisée par automate compteur de type (d'Abacus 380) à 19 paramètres .Le tube du sang total avec l'héparine ou EDTA (anticoagulant) est place dans l'automate ; et la mesure de la FNS commence. Les résultats s'affichent automatiquement sur l'écran, et sont ensuite imprimés. Les paramètres déterminés sont : globule blanc (WBC), lymphocytes (LY), monocytes (MO), granulocyte (GRA), le comptage a été réalisé au niveau du laboratoire el Amal (Tébessa) suivant la méthode d'Evelyne et Malloy (1938).



Figure13: Un automate d'Abacus 380 à 19 paramètres

1.5. Etude des paramètres biochimiques

1.5.1. Mesure de la glycémie

a.Principe : le dosage du glucose sanguin a été effectué par un glucomètre qui utilise des bandelettes réactives. Ces dernières sont destinées a un usage diagnostic *in vitro* (externe) pour le test de la glycémie. Elles sont conçues pour mesurer le glucose dans le sang total capillaire. La bandelette réactive contient de la glucose-oxydase, une enzyme qui oxyde le glucose dans le sang et qui produit de l'acide D-gluconique et du peroxyde d'hydrogène.

b.Mode opératoire

- Le lecteur se met en marche automatiquement par simple insertion de la bandelette Réactive Accu-Chek (dans le sens des flèches et jusqu'a la butée).
- Le symbole d'une goutte clignote.
- Déposer la goutte de sang sur la zone de dépôt orange de la bandelette. Le résultat s'affiche en 5 secondes. La glycémie est donnée en g/dl.

1.5.2. Mesure du cholestérol

Le Dosage ce fait selon la fiche technique Biomaghreb (Fasce, 1982; Richmond, 1973; Trinder, 1969).Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe coloré selon l e réactions ci-dessous :

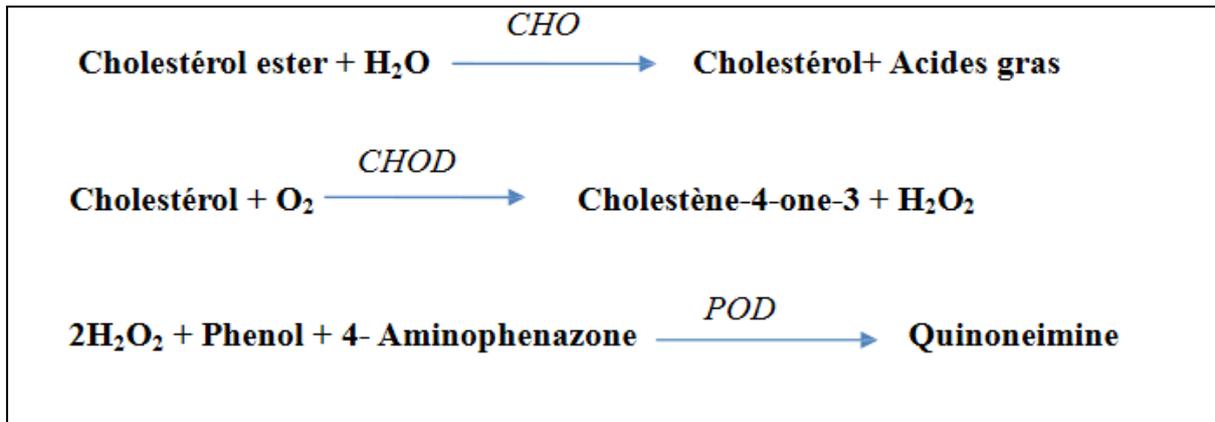


Tableau 03 :Réactifs utilisés dans le dosage de cholestérole

Réactif 1 :	PIPES pH 6.9	90 mmol/l
tampon	Phénol	26 mmol/l
Réactif 2 :	Cholestrol esterase (CHE)	300 U/L
Enzymes	Cholesterol oxidase (CHOD)	300 U/L
	Peroxidase	1250 U/L
	4-Aminophenazone (4-AP)	0.4 mmol/l
Etalon	Cholesterol aqueous (standard)	2g/l

3-Réactif de travail: dissoudre le contenu de réactif2 dans le flacon de réactif1 et mélanger légèrement.

4-Echantillon: Plasma.

Tableau 04 :Réactifs de travail

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	--	10	--
Echantillon (µl)	--	--	10

Mode opératoire

Mélanger, incuber pendant 5min à 37°C, ou 15-20 min à une température ambiante. Lire les absorbances des échantillons et de l'étalon contre le blanc réactif à 505 nm. La coloration finale est stable au moins 30 minutes.

Calcul de la concentration:

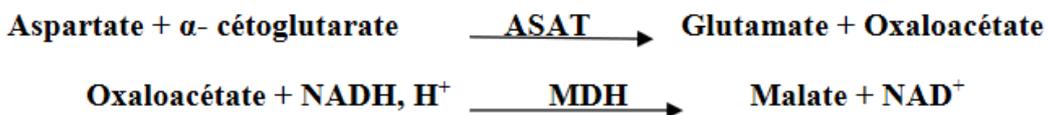
$$\text{Cholestérol (g/l)} = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times 2 \text{ g/l}$$

A: Densité optique

1.5.3. Dosage des transaminases plasmatiques

1.5.3.1. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT)

Principe : L'aspartate aminotransférase (ASAT) appelée aussi l'oxaloacétate de glutamate transaminase (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate au α -cétoglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH, H⁺ (Murray, 1984) selon la réaction ci-dessous :

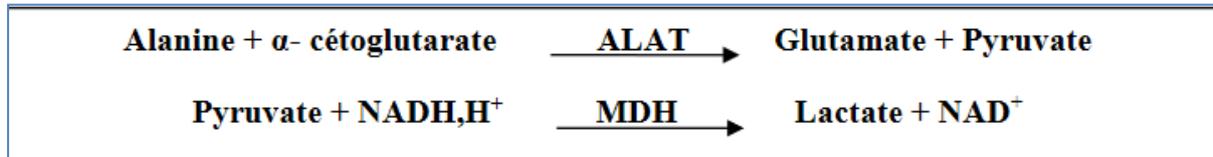


La diminution de la concentration en NADH est directement proportionnelle à l'activité enzymatique d'aspartate aminotransférase dans l'échantillon (Murray, 1984).

1.5.3.2. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT)

Principe : L'alanine aminotransférase (ALAT) appelée aussi le pyruvate de glutamate transaminase (TGP) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'alanine au α -cétoglutarate formant le glutamate et le pyruvate. Le pyruvate est réduit au lactate par la

malate déshydrogénase (MDH) et le NADH, H⁺ (Murray, 1984). Ce principe est présenté selon la réaction suivante :



La diminution de la concentration en NADH est directement proportionnelle à l'activité enzymatique d'alanine aminotransférase dans l'échantillon (Murray, 1984)

1.6. Evaluation des paramètres du stress oxydant hépatique

1.6.1. Mesure du malone-dialdéhyde (MDA)

a. Principe

Le MDA est un produit des réactions de peroxydation lipidique qui se forme lors de l'attaque des lipides polyinsaturés par des espèces réactives de l'oxygène générées par certains contaminants. Dans notre étude, les taux du MDA hépatique a été évalués selon la méthode d'Ohkawa *et al* (1979). Le dosage repose sur la formation en milieu acide et chaud (100 °C) entre le MDA et l'acide Thio barbiturique (TBA) d'un pigment colore absorbant a 530 nm, extractible par les solvants organiques comme le butanol.

b.Péparation de l'homogénat : 500 mg du foie des deux lots sont broyés a froid a l'aide d'un homogénéisateur ultrason en présence de 5 ml d'une solution de tampon phosphate (0,1 M, pH 7.4) pour obtenir un homogénat.

a.Mode opératoire

- _ Prélever 0,5 ml de l'homogénat.
- _ Ajouter 0,5 ml d'acide trichloracétique (TCA) 20 %.
- _ Ajouter 1 ml d'acide Thio barbiturique (TBA) 0,67 %.
- _ Mélanger et incuber au bain marie a une température de 100 °C durant 15 min.
- _ Refroidir et additionner 4 ml de *n*-butanol.
- _ Centrifuger pendant 15 minutes a 3000 tours/min.
- _ Récupérer le surnageant, et lire la densité optique a 530 nm contre le blanc.

Calcul de la concentration du MDA : la quantité du MDA dans l'échantillon est exprimée en nmol/gramme de tissu (foie). Elle est obtenue grâce à une courbe standard réalisée avec du 1,1',3,3'-tetraethoxypropane faite dans les mêmes conditions

1.6.2. Dosages des protéines

a.Principe : la concentration de protéines est déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)** qui utilise le bleu de Coomassie (G 250) comme réactif. Les groupements amines (-NH₂) des protéines réagissent avec un réactif à base de l'acide ortho phosphorique, de l'éthanol et de bleu de Coomassie pour former un complexe de couleur bleue. L'apparition de cette couleur reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité établit la concentration des protéines dans l'échantillon.

b.Mode opératoire

- _ Prélever 0,1 ml de l'homogénat.
 - _ Ajouter 5 ml du réactif de Bradford.
 - _ Agiter et laisser reposer 5 min pour la stabilisation de la couleur.
 - _ Lire la densité optique a 595 nm, contre le blanc.
 - _ La densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage Préalablement tracée.
- La concentration des protéines est déterminée par comparaison a une gamme étalon D'albumine sérique bovine (BSA) (1 mg/ml) réalisée dans les mêmes conditions

1.6.3 .Dosage de l'activité de la glutathion S-transférase (GST)

Les glutathion S-transférases appartiennent à une famille d'enzymes multifonctionnelles essentiellement cytosoliques, impliqués dans le transport et la biosynthèse intracellulaire. Elles catalysent des réactions de conjugaison entre un peptide endogène, en présence d'un cofacteur le glutathion, et des molécules réactives comportant des sites électrophiles. La conjugaison entraine la formation d'une molécule nouvelle; 1-S-Glutathionyle 2-4 Dinitrobenzène permettant de mesurer l'activité de GST.

a.Principe : La technique que nous avons utilisée pour doser l'activité de GST est celle de **Habig et al (1974)**. Elle mesure la cinétique de formation entre un substrat modèle, le chlorodinitrobenzene (CDNB) et le glutathion, qui absorbe la lumière à 340 nm.

b.Mode opératoire : Les échantillons sont homogénéisés dans 1 ml de tampon phosphate (0.1M, pH6).L'homogénat est centrifugé à 1400 t/min pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzymes. Le dosage consiste à faire réagir 200 µl du surnageant avec 1,2 ml du mélange CDNB. La lecture des absorbances est effectuée toutes les minutes pendant 5 minutes à une longueur d'onde de 340nm dans un spectrophotomètre UV/visible contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité du surnageant.

c.Calcul de l'activité de la GST : L'activité de la GST exprimée en nanomoles de C-DNB par minute par milligramme de protéines (nmol C-DNB/min/mg prot) selon la formule suivante :

$$\text{GST (nmol C-DNB/min/mg prot)} = \frac{\Delta \text{ DO échantillon} - \Delta \text{ DO Blanc}}{\varepsilon \times L \times \text{mg prot}}$$

▪ $\Delta \text{ DO échantillon} - \Delta \text{ DO blanc}$: moyenne des DO des échantillons par minute –moyenne des DO des Blancs par minute

▪ ε : Coefficient d'extinction moléculaire du C-DNB, $\varepsilon_{\text{CDNB}} = 9.6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

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

1.7. Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) cérébral

La mesure de l'activité de l'AChE a été évaluée selon la méthode (Ellman ,1961). Ainsi, l'acétylcholinestérase contenue dans la fraction des tissus va réagir avec l'acétylthiocholine (ASCh) en libérant l'acétate et la Thio choline (SCh). Cette dernière réagit à son tour avec le 5-5'-Dithio-bis (2-nitrobenzoate) (DTNB) en donnant du TNB produit de couleur jaune qui est absorbée à 412 nm et dont la concentration est proportionnelle à la quantité d'enzymes présente dans le milieu. Brièvement, 50 μ l de surnageant sont ajoutés au 50 μ l de l'acétylthiocholine (ASCh), 50 μ l 5-5'-Dithio-bis (2-nitrobenzoate) (DTNB) et 1000 μ l Tampon phosphate (PBS) (0.1 M, pH 7.4). La lecture de l'absorbance se fait à 410 nm à un intervalle de temps de 15 min (lecture de la DO chaque 3min) contre la solution blanc. L'activité de l'AChE en nano moles par minutes par milligrammes de protéines se calcule selon la formule suivante :

$$\text{AChE} = \frac{\Delta \text{ Do/mn} \times 1000 \times (\text{Volume total/volume échantillon})}{13.6 \times 0.779 \times \text{mg de protéines}}$$

$\Delta \text{DO/min}$: variation de la densité optique par minute

0.779 : longueur en cm du puits

1.8. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne plus ou moins l'écart-type ($m \pm s$) et illustrés par des tableaux et histogrammes. Le traitement statistique des résultats est exploité en réalisant une analyse de variance à un facteur contrôle (ANOVA), le test de Tukey a été utilisé pour comparer les groupes. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel statistique Minitab 17.1 et Excel 16.0 (Microsoft, Inc.). Le niveau de signification statistique était fixé à $p < 0,05$.

✓ : Différence significative ($p \leq 0.05$) ; ✓** : Différence hautement significative ($p \leq 0.01$) ; ✓*** : Différence très hautement significative ($p \leq 0.001$).

Résultats

2. RESULTATS

2.1. Etude des paramètres biologiques

2.1.1. Effet du Fenthion sur l'évolution pondérale

Nos résultats montrent une diminution du poids corporel chez les lots traités par le Fenthion comparativement au lot témoin (**Figure 16**).

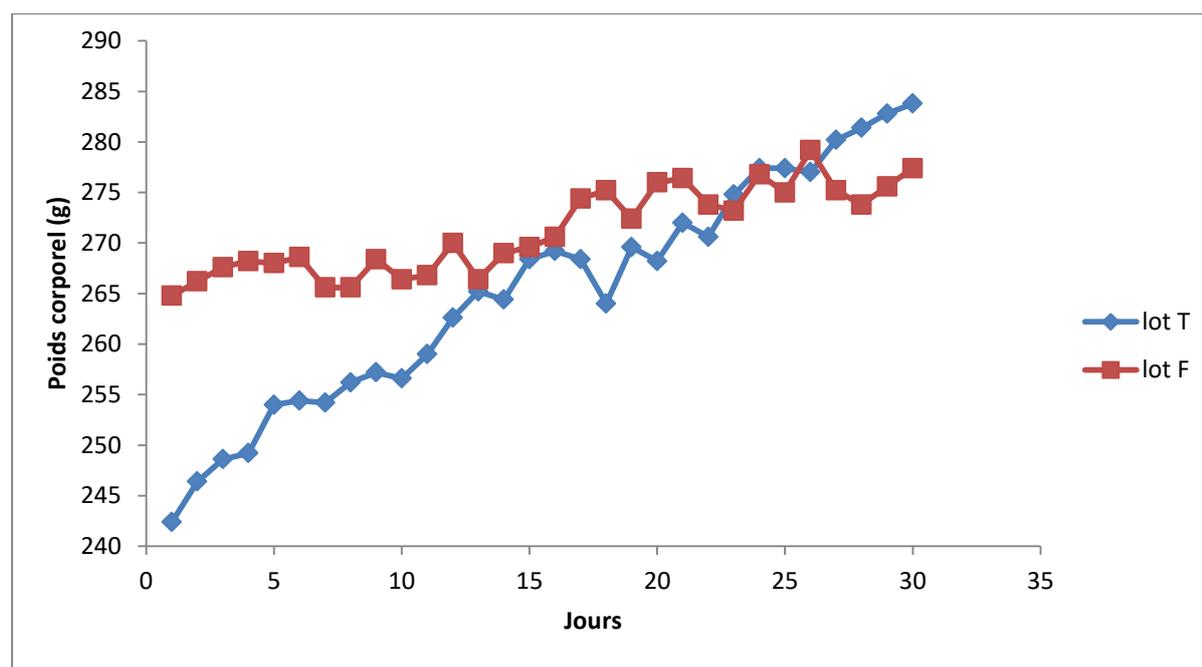


Figure 16 : Variation du poids corporel chez rats témoins et traités au fenthion.

2.1.2. Effet du fenthion sur les poids relatif de certains organes

La figure (17) et le tableau (05) mettent en évidence l'évolution des poids relatif (PR) du foie et du cerveau chez les rats témoins et les rats traités par le pesticide. Les résultats obtenus montrent qu'il y a eu une augmentation significative ($p < 0.05$) du poids relatif du foie chez les groupes traités par les pesticides comparant au groupe témoin. Par contre, une diminution significative ($p < 0.05$) du poids relatif du cerveau du lot traité par rapport au témoin.

Tableau 05: Variation du poids relatif du foie et du cerveau chez le lot témoin et traites

Poids relative des organes (g/100g du poids vif)	Témoin	Fenthion
Poids relative du foie (g/100g)	2,206 ± 0,0509	2,534 ± 0,357 *
Poids relative du cerveau (g/100g)	0,429 ± 0,03959	0,363 ± 0,050 *

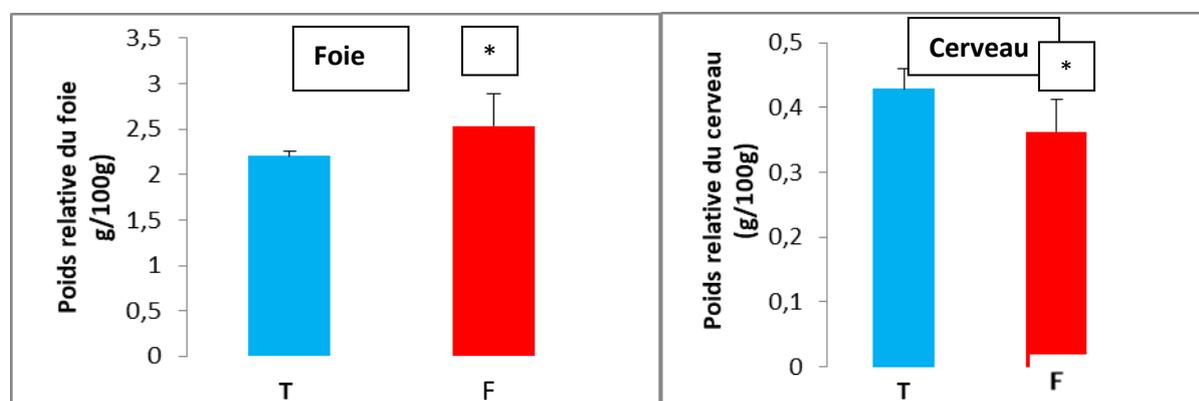


Figure 17 : Variation du poids relatif du foie et du cerveau chez le lot témoin et traité.

($p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (comparaison vs T; , $n=10$))

2.2. Etude des paramètres biochimiques

2.2.1. Effet du fenthion sur certains biomarqueurs plasmatiques de la fonction hépatique

2.2.1.1. Activités des transaminases

Nos résultats (**figure 18** , **tableau06**) montrent que le traitement des rats par le fenthion induit une augmentation très hautement significative ($p \leq 0,01$) de l'activité de l'ALAT et ASAT ($p \leq 0,001$) par rapport au témoin.

Tableau 06: Variation des transaminases chez le lot témoin et traité

Parameters/lots	T	F
ASAT (UI/l)	75,86 ± 10,77	199,52 ± 53,40 ***
ALAT (UI/l)	68,07 ± 6,39	97,03 ± 15,96 ***

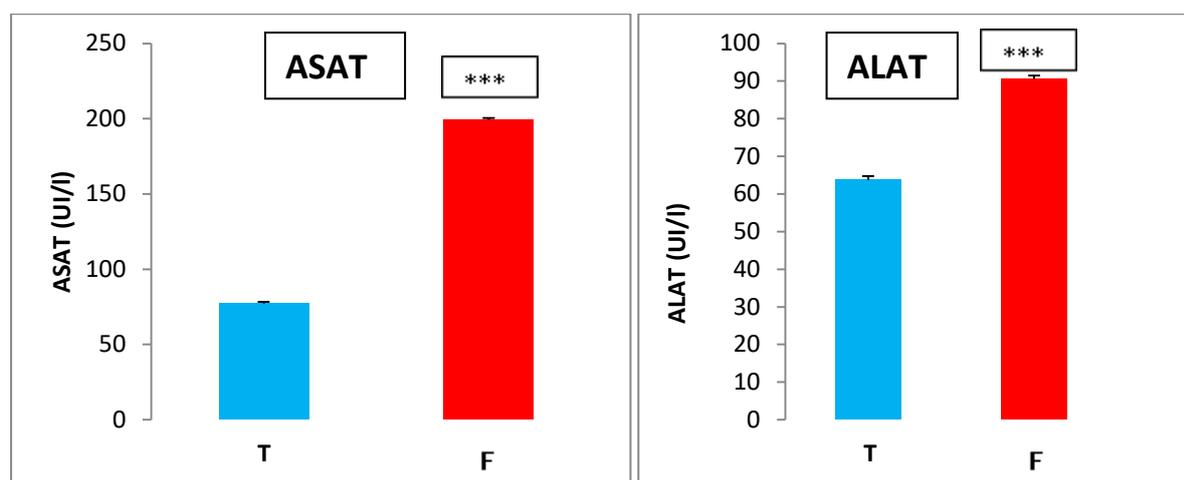


Figure 18: Variation des transaminases chez le lot témoin et traité

($p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (comparaison vs T; n=10))

2.2.1.2. Concentration plasmatiques du glucose et du cholestérol

D'après les résultats obtenus (**Figure 18**), on observe une augmentation hautement significative ($p \leq 0,01$) de la concentration plasmatique en glucose et très hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration du cholestérol chez le lot traité par le fenthion par rapport le lot témoin.

Tableau 07 : Variation de la glycémie et du cholestérol chez le lot témoin et traité

Paramètres/lots	T	F
Glycémie (g/l)	1,256 ± 0,077	1,668 ± 0,244 **
Cholesterol (mg/dl)	0,616 ± 0,063	1,580 ± 0,068 ***

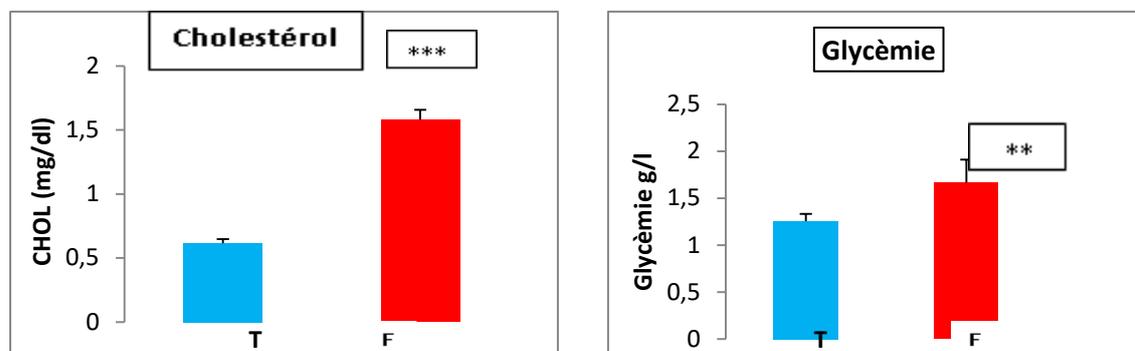


Figure 18 : Variation de la glycémie et du cholestérol chez le lot témoin et traité.

($p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (comparaison vs T; , $n=10$))

2.2.2. Effet du fenthion sur le statut redox hépatique

a. Taux du malondialdéhyde (MDA)

Nous avons constaté une élévation hautement significative de l'MDA hépatique ($p \leq 0.01$) chez les rats recevant le fenthion par rapport au groupe témoin.

b. Activité de la glutathion S-transférase (GST)

L'administration du pesticide étudié pendant 30 jours chez les rats, induit une diminution de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST) au niveau hépatique ($p \leq 0.01$) par rapport aux rats témoins.

Tableau 08: Variation du taux du malondialdéhyde et de l'activité de la glutathion-S-transférase (GST) au niveau hépatique chez le lot témoin et traité

Paramètres/lots	T	F
MDA (nmol/mg prot)	0,137 ± 0,030	0,515 ± 0,204 **
GST (nmol/min/mg port)	0,0064 ± 0,0006	0,0038 ± 0,001 **

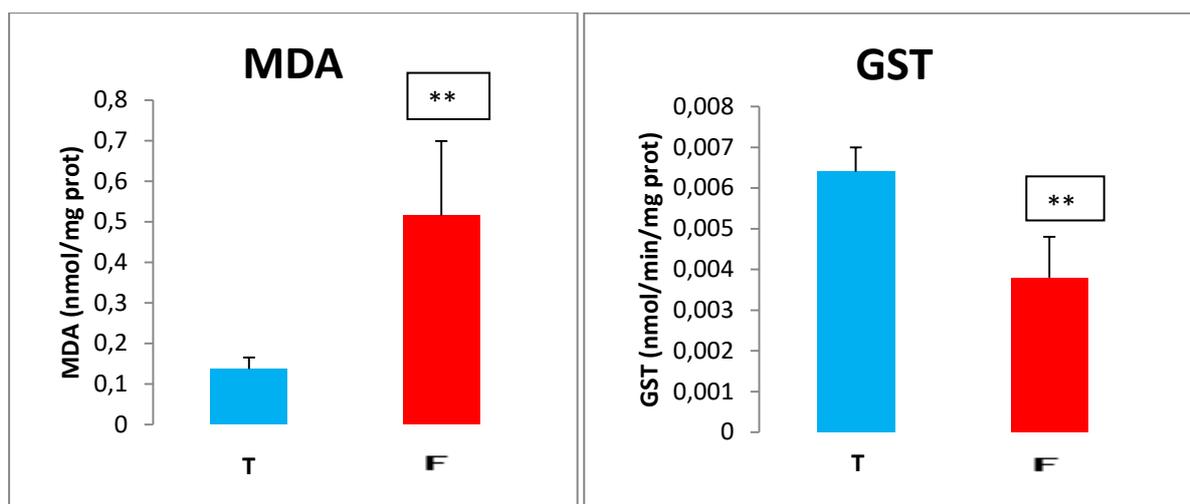


Figure19 : Variation du taux du malondialdéhyde et de l'activité de la glutathion-S-transférase (GST)au niveau hépatique chez le lot témoin et traité.

($p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (comparaison vs T; , $n = 10$)

2.3. Etude des paramètres hématologiques

2.3.1. : Effet du fenthion sur la population leucocytaire

Nos résultats montrent que les rats traités au fenthion montrent une augmentation hautement significative ($p < 0.001$) des leucocytes totaux, des lymphocytes et des monocytes comparativement aux témoins.

Concernant les granulocytes, nos résultats montrent une diminution non significative chez le lot traité par le fenthion comparativement au lot témoin.

Tableau 09: Variation du profil leucocytaire chez les rats témoins et traités au fenthion

Paramètres/lots	T	F
WBC ($10^3/mm^3$)	7,040 ± 0,991	11,880 ± 2,511 **
LYM ($10^9/l$)	7,040 ± 0,991	11,880 ± 2,511 **
MON ($10^9/l$)	0,528 ± 0,052	0,680 ± 0,080 **
GRA ($10^{12}/l$)	2,024 ± 0,111	1,800 ± 0,308 Ns

2.4. Etude comportementale

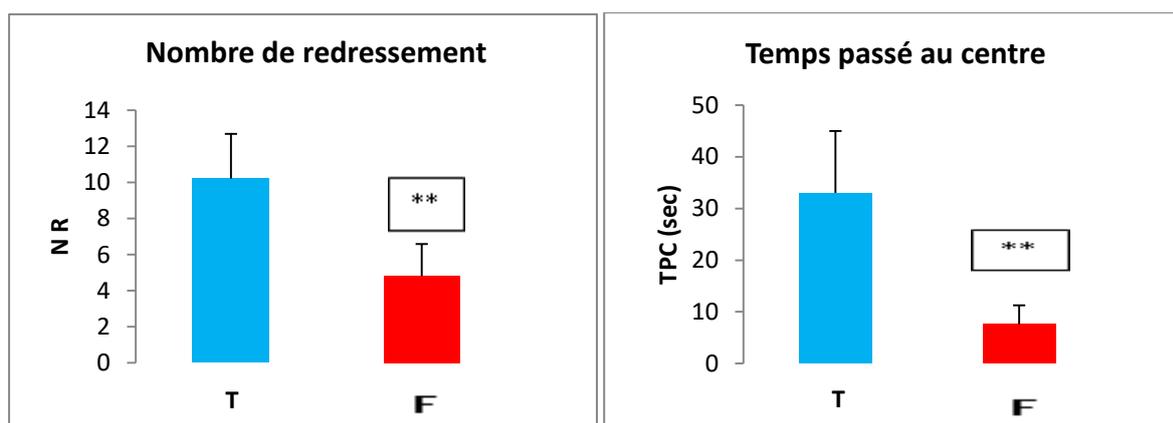
2.5.1. Effet du fenthion sur les paramètres du test des champs ouverts

Les résultats des rats traités au fenthion montrent une diminution hautement significative ($p < 0.001$) dans la distance totale parcourue et du temps passé au centre et du nombre d'entrées au centre ainsi que le nombre de redressement.

Par contre, une augmentation hautement significative du temps d'immobilité et le temps passé au périphérique ont été remarque chez les rats traités au fenthion comparativement aux rats témoins.

Tableau10 : Variation des paramètres de l'OF chez les rats témoins et traités

Paramètres/lots	T	F
Distance totale parcourue (cm)	576.30 ± 144	224.62 ± 117 **
Temps d'immobilité (sec)	177,00± 50,72	274,20± 15,14 **
Temps passé dans la périphérie	200,0 ± 40,47	238,60 ± 14,10 *
Temps passé au centre	33,000± 12,042	7,600 ± 3,647 **
Nombre de redressement	10,200± 2,775	4,800 ± 1,789 **
Nombre d'entrées au centre	2,400± 1,517	1,400 ± 0,894 Ns



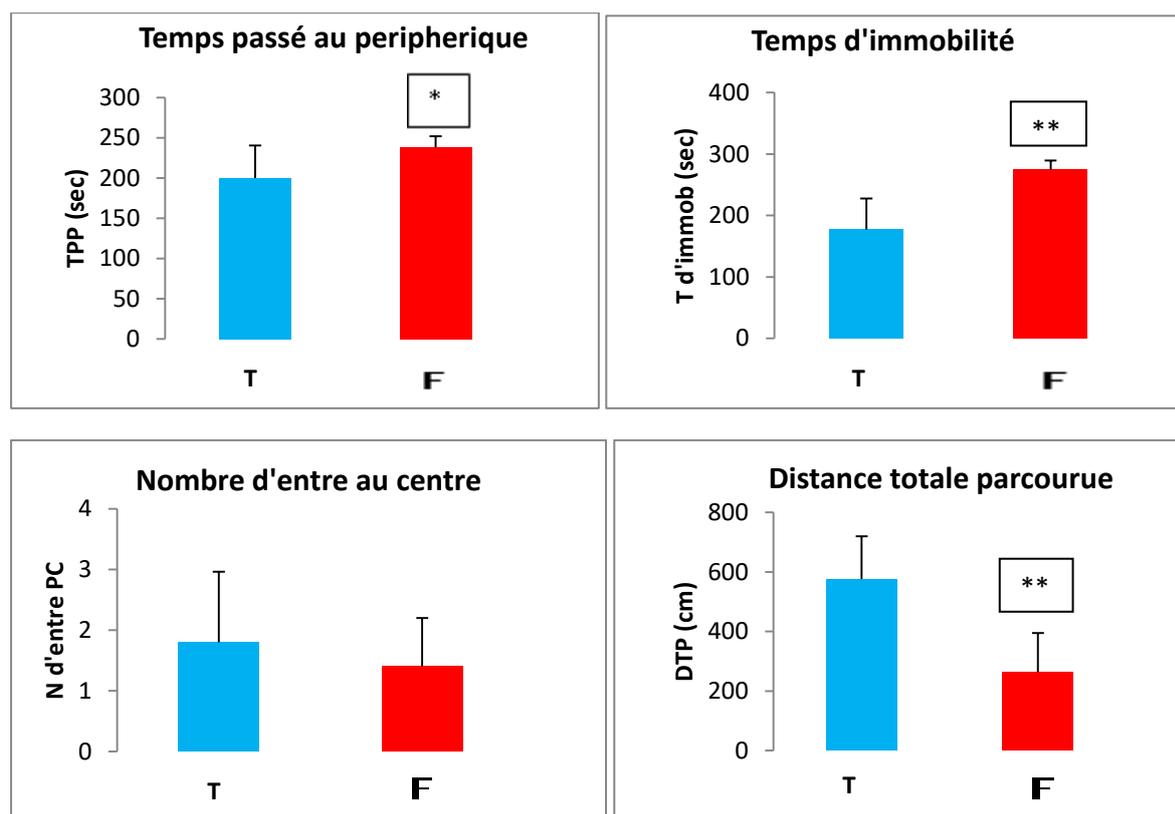


Figure 20 : Variation des paramètres de l'OF chez les rats témoins et traités

($p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (comparaison vs T; , $n = 10$).

2.5.2. Effet du Fenthion sur les paramètres du test de labyrinthe en croix surélevé

Les résultats du **tableau (11)** des rats traités au fenthion montrent une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) du temps passé dans les bras fermés et leurs parties distales et une diminution hautement significative ($p < 0.001$) du temps passé dans les bras ouverts ($p < 0.001$) et sa partie proximale par rapport aux témoins.

Cependant, une diminution significative ($p < 0.05$) du nombre de redressement est remarqué chez le lot traité par le fenthion comparativement au lot témoin.

Tableau 11: Variation des paramètres de l' EPM chez les rats témoins et traités

Paramètres/lots	T	F
Temps passé au centre (sec)	10,20 ± 8,58	36,80 ± 24,51 *
Temps passé dans les bras ouverts (sec)	176,00 ± 48,93	19,00 ± 10,30 ***
Temps passé dans la partie distale du bras ouverts (sec)	66,00 ± 48,47	2,60 ± 5,81 **
Temps passé dans la	22,400 ± 9,762	8,600 ± 5,459

partie proximale du bras ouverts (sec)		*
Nombre d'entrée au bras ouverts	1,80 ± 0,83	1,00 ± 0,00 Ns
Temps passé dans les bras fermé (sec)	89,40 ± 50,12	249,60 ± 40,43 ***
Temps passé dans la partie proximale du bras fermé (sec)	49,00 ± 49,57	5,80 ± 4,97 **
Temps passé dans la partie distale du bras fermé (sec)	30,60 ± 7,23	200,00 ± 57,08 ***
Nombre d'entrée au bras fermé	3,000 ± 2,000	1,000 ± 0,000 *
Nombre de redressement	6,000 ± 3,162	2,800 ± 1,483 *

(p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001 (comparaison vs T; n=10)).

2.5.3. Effet du Fenthion sur les paramètres du test de reconnaissance olfactif

Nos résultats (**Tableau 12, figure 21**) montrent que les rats traités par le fenthion passent plus de temps au centre comparativement aux témoins, cependant, le temps de latence vers la propre scissure et la scissure familiale est égale comparativement aux témoins qui explorent beaucoup la scissure familiale que la scissure propre.

Tableau 12: Variation des paramètres de test de reconnaissance olfactif chez le lot témoin et traités.

Paramètres/lots	T	F
Temps au centre (sec)	95,40 ± 60,22	277,80 ± 30,65 ***
Temps de latence vers propre scissure (sec)	9,800 ± 8,408	7,200 ± 5,718 Ns
Temps de latence vers familiale scissure (sec)	145,20 ± 90,16	7,20 ± 9,96 **

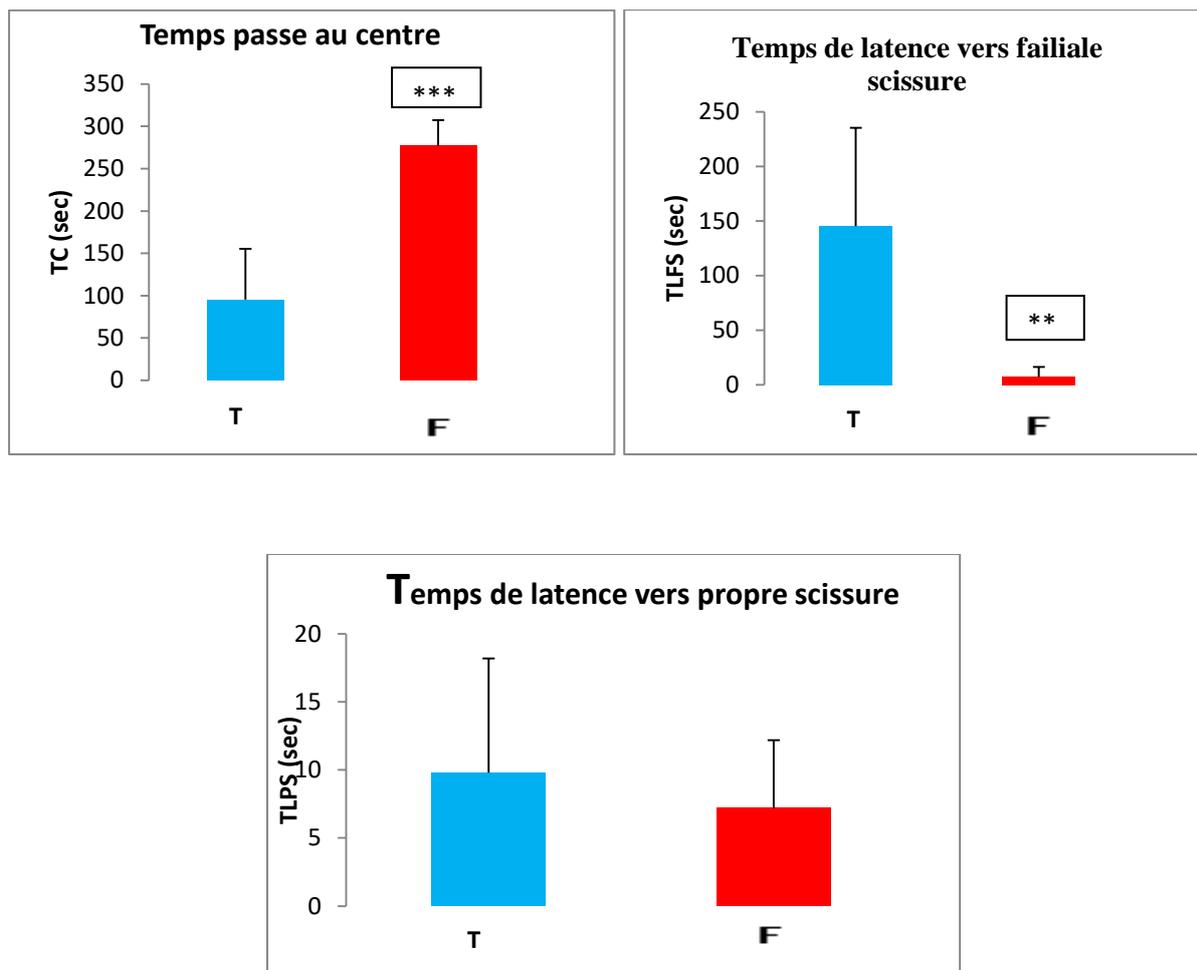


Figure 21 : Variation des paramètres de test de reconnaissance olfactif chez le lot témoin et traités.

($p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (comparaison vs T, $n = 10$)).

Effet du fenthion sur l'activité cholinestérasique

Nos résultats montrent que les rats traités au fenthion montrent une diminution hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité cholinestérasique.

Tableau 13: Variation de l'activité cholinestérasique cérébrale chez les rats témoins et traités.

Parameters/lots	T	F
Acetylcholine (nmol/min/mg protéines)	$0,215 \pm 0,010$	$0,119 \pm 0,006$ ***

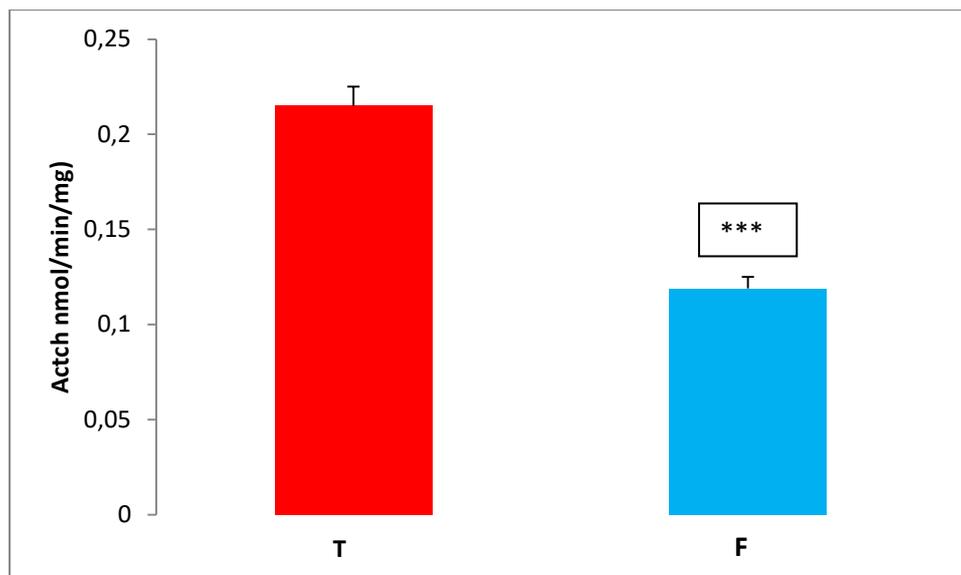


Figure 22 : Variation de l'activité cholinestérasique cérébrale chez les rats témoins et traités.

Discussion

3. DISCUSSION

3.1.Effet du Fenthion sur le poids corporel

L'étude du poids corporel est utilisée comme indicateur de la détérioration de l'état de santé générale du rat, les résultats de notre expérimentation suggèrent que l'administration du Fenthion fait diminuer la croissance corporelle par rapport à celle des témoins, Cet effet peut être aussi expliqué par l'action des polluants sur le transport des éléments nutritifs (les acides aminés, le glucose et les minéraux essentiels comme le zinc, le magnésium, le fer...) par le sang et par conséquent, ils peuvent induire une mauvaise assimilation des aliments par le corps (**Dieter et al, 1988 ;Cempel et Janicka, 2002**), et aussi pourrait être expliqué par la diminution des prises quotidiennes en aliment. Ces résultats permettent de suggérer que ces insecticides présentent des effets néfastes sur la croissance corporelle des rats. Ces effets peuvent être refléter des changements programmés dans l'hypothalamus, qui joue un rôle central dans la régulation de l'appétit et la prise alimentaire (**Mc Millen et al., 2005**).

En général, la chute corporelle est due en premier à une diminution de la masse grasse suivie de celle de la masse maigre. Elle représente la conséquence ultime d'un déséquilibre de la balance énergétique entre les apports qui sont inférieurs aux dépenses énergétiques (**Ritz et al., 2007**).

Nos résultats sont en accord avec des études antérieures réalisées sur des rats adultes traités par des insecticides ont montré également une diminution significative de leurs poids corporels (**El-Demerdash et al., 2004 ; Saoudi et al.,2011 ; Medjdoub, 2013 ; Mossa et al., 2014**). Contrairement à nos résultats, **Bhaskar et Mohanty (2014)** ont trouvé que la coexposition au mancozeb et imidaclopride à des faibles doses provoque un gain significatif de poids corporel relatif.

3.2.Effet du fenthion sur le poids relatif du foie

Concernant le poids des organes, nous remarquons une augmentation de poids relatif de foie chez les rats traités par le fenthion. Ceci est explicable par l'hypertrophie tissulaire de ces organes causée par ces insecticides d'une part, et par leurs accumulations dans ces organes cibles de détoxification d'autre part. Une diminution significative du gain de poids corporel et

une augmentation du poids relatif du foie ont été observées chez les animaux traités au fenthion comparativement au groupe témoin (**Bouhali, 2015, Wayland, 2015**).

3.3.Effet du fenthion sur le poids relatif du cerveau

Certains auteurs rapportent que cette diminution du poids cérébral peut aussi être due au retard de la maturation neuronale résultat de la rupture vasculaire, ainsi que la baisse du poids des différentes structures cérébrales (cortex, cervelet et hippocampe) pouvant être traduite sur le plan cellulaire par un accroissement de la couche moléculaire de cervelet, de la densité des cellules granulaires et de l'arborisation dendritique (**sidhu et nehru, 2004**).

L'atrophie cérébrale s'accompagne d'une dilatation symétrique des ventricules cérébraux et d'un élargissement des sillons corticaux (**Mattson, 2004**).

L'amyloïdose cérébrale initierait une réponse dégénérative chronique, comportant des changements cellulaires et moléculaires multiples (inflammation, activation de kinases, excitotoxicité, stress oxydatif, dégénérescences neurofibrillaires), conduisant à la mort neuronale et responsable sur un plan clinique d'un syndrome démentiel (**Hardy and Selkoe, 2002**).

3.3.Effet du fenthion sur les paramètres biochimiques

✓ Sur l'activité des transaminases :

Dans notre étude, les rats traités au fenthion ont montré une augmentation de l'activité plasmatique des transaminases. Les organophosphorés peuvent provoquer l'augmentation de l'activité des ASAT et ALAT (**Sharma et al.,2005**). La perturbation de la fonction de transport des hépatocytes en tant que résultat d'une lésion hépatique provoque la fuite d'enzymes à partir de cellules en raison d'une altération de la perméabilité membranaire (**Fan et al., 2009**). Cette augmentation indique aussi la présence d'une nécrose et des réactions inflammatoires (**Kuzu et al., 2007; Navarro et al., 1993**). Plusieurs études ont rapporté la perturbation des transaminases et de la phosphatase alcaline suite à l'exposition aux organophosphorés (**Tarek et al.,2013; Gokce Uzun et Kalender,2013**). Selon (**Kerem et al.,2007**).

En règle générale, ces résultats peuvent indiquer des changements dégénératifs et nécrotiques dans le foie (**El-Nekeety et al., 2009**).

✓ Sur la concentration plasmatiques du glucose

L'analyse des résultats obtenus a montré une augmentation significative en glucose plasmatique chez les rats traités par le fenthion. Le stress est également connu pour l'augmentation relative du sucre sanguin dû au sécrétions des corticostéroïdes (**Kioukia et al., 2002**). Selon **Surwit (1992)**, le stress augmente la production hépatique de glucose et diminue sa clairance périphérique. L'un des mécanismes proposés pour l'hyperglycémie induite par les organophosphoré est l'activation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA) qui régule le processus de synthèse et de sécrétion des glucocorticoïdes par le cortex surrénalien (**Rahimi et Abdollahi, 2007**). Dans la réponse au stress, l'hypothalamus libère l'hormone libérant la corticotropine (CRH) qui stimule l'hypophyse pour libérer l'hormone adrénocorticotrope (ACTH). L'ACTH stimule ensuite la sécrétion de glucocorticoïdes à partir de la glande surrénale (**Beishuizen et Thijs, 2003**). Les hormones glucocorticoïdes (principalement le cortisol chez l'homme et la corticostérone chez les rongeurs) augmentent la glycémie en induisant la voie de la néoglucogenèse (**Khani et Tayek, 2001**). Il a été démontré que les organophosphorés provoquaient l'activation de l'HPA entraînant une augmentation des taux plasmatiques de corticostérone (**Joshi et Rajini, 2009; 2012**). Les études faites chez l'animal et sur les cellules humaines, montrent que les pesticides semblent modifier le métabolisme du glucose et l'action de l'insuline (**Sargis, 2014**). En plus, l'inhibition de l'acétylcholinestérase par nos pesticides cause l'augmentation de la libération de l'acétylcholine dans la circulation, stimulant ainsi une hypersécrétion des catécholamines chez les rats. Ces derniers stimulent à leur tour la glycogénolyse par l'intervention du système d'adénylcyclase donc l'apparition de l'hyperglycémie (**El Missiry et Othman, 1993**).

Dans la littérature, plusieurs études sont rapporté l'effet hyperglycémiant des OP. (**Eman et al., 2013**), ont montré l'hyperglycémie induite suite à l'exposition subchronique au chlorpyrifos-ethyl. (**Carmin et al., 2012**) ont montré l'hyperglycémie induite suite à l'exposition aiguë au chlorpyrifos-ethyl.

✓ Sur la concentration plasmatiques du cholestérol

Dans notre travail, nous avons assisté à une augmentation du cholestérol . Les OP augmentent généralement le niveau du cholestérol (**Kalender et al., 2005; Ögütçü et al., 2008; Lasram et al., 2009**). L'augmentation du cholestérol dans le sérum peut être attribuée à l'effet des pesticides sur la perméabilité de la membrane des cellules du foie (**Yousef et al., 2006**). En outre, l'augmentation des niveaux du cholestérol sérique total peuvent être dû à

l'obstruction des canaux biliaires du foie, ce qui réduit ou arrête la sécrétion du cholestérol dans le duodénum (Zaalouk et al., 2000 ; Ögütçüet al., 2008). L'augmentation du taux de cholestérol sérique peut être un signe de dommages du foie.

✓ Effets du fenthion sur le statut redox

L'administration du fenthion pendant 30 jours chez les rats, induit une diminution significative de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST) au niveau hépatique ($p \leq 0.01$) et une augmentation significative du taux de MDA par rapport aux rats témoins.

L'exposition aux pesticides peut induire un état de stress oxydant (SO) par : (1) production accrue des radicaux libres qui s'accumulent dans la cellule, (2) altération des mécanismes de défense antioxydante ; y compris la détoxification et les enzymes de balayage, ou augmentation de la peroxydation lipidique suite à l'interaction entre les ERO et les membranes cellulaires ou sous-cellulaires (Abdollahi et al., 2004).

Plusieurs recherches sur des animaux d'expérience ont rapporté que le SO joue un rôle important dans la toxicité de divers pesticides, y compris OP (Possamai et al., 2007).

En plus, les études épidémiologiques chez l'homme après exposition de long terme à un mélange des pesticides ont montré la stimulation des enzymes anti-oxydantes et l'induction de la peroxydation lipidique dans les érythrocytes même en l'absence d'une diminution d'acétylcholinestérase (Ogut et al., 2011).

La peroxydation lipidique (LPO) est considérée comme le principal mécanisme moléculaire impliqué dans l'endommagement oxydatif des structures cellulaires. Il s'agit d'une réaction en chaîne initiée par l'extraction d'hydrogène ou l'addition d'un radical oxygène, entraînant l'endommagement oxydatif des acides gras polyinsaturés et la production de nombreux aldéhydes (Repetto et al., 2012). Les résultats de la présente étude ont montré que l'exposition des rats fenthion cause l'accumulation de malondialdéhyde (MDA), les principaux produits finaux de la peroxydation lipidique au niveau cytosolique et mitochondrial. L'exposition aux insecticides induit un stress oxydatif (Abdollahi et al., 2004 ; Che-Mendoza et al., 2009), et le malondialdéhyde est considérée comme un indicateur du stress oxydatif (Ma et al., 2013, Akande et al., 2014), qui résultent des dommages des radicaux libres sur les composants membranaires des cellules causant des changements dans la structure et la fonction membranaires et mène à la diminution de la fluidité de la membrane et

l'inactivation de plusieurs enzymes membranaires (**Amin et Hashem, 2012; Halliwell et Gutteridge, 1995**). Diverses études indiquent que la production de ROS est un moyen secondaire de la toxicité (**Sidhu et al., 2014**).

L'élévation du taux de MDA est un signe d'altération de la membrane des hépatocytes (**Raina et al., 2015**). Cette augmentation marquée pourrait être attribuée dans notre étude à la capacité des pesticides utilisés à produire (ROS) au niveau cytosolique et sur les mitochondries du foie. (**Tuzmen et al., 2008**), ont démontré que des rats ont développé une peroxydation lipidique et des dommages au foie à la suite de l'exposition au organophosphoré.

Dans la présente étude, le taux de MDA a été augmenté, tandis que l'activité de l'antioxydant (GST) a été réduites dans le groupe traité par le fenthion. La concentration accrue de MDA dans les groupes traités peut être attribuée à une production excessive de ROS par le pesticide, ce qui peut avoir provoqué la diminution de l'activité de l'enzyme

antioxydant (**Akande et al., 2014**). Les travaux menés par **Banerjee (1999)** ont clairement démontré que les pesticides avaient une influence sur les enzymes antioxydants.

Nos travaux sont en accord avec les travaux antérieurs (**Ajay et al.,2005, Khan et al., 2005 ; Hai et al.,1997; Yurumez et al., 2007; Mansour et Mossa 2011; Raina et al.,2015**).

3.4.Effet du fenthion sur la population leucocytaire

Plusieurs études ont montré que les insecticides organophosphorés peuvent induire des changements immunitaires chez les animaux de laboratoire (**Kalenderet al., 2006**). Dans le travail présent, nous avons assisté à une leucocytose chez les rats traités au fenthion, ceci est due la libération des catécholamines, hormones de stress, ce qui provoque la démargination des neutrophiles qui est souvent accompagnée par une lymphocytose et par fois par monocytose et éosinophilie (**Kandil et al, 2006; Jain, 1993**).

Aussi, l'augmentation des leucocytes totaux chez les rats peut indiquer une activation des mécanismes de défense du système immunitaire. Ces changements sont aussi liés à l'augmentation plasmatique de l'activité des transaminases (**Elhalwagy et al., 2008**) , L'augmentation des lymphocytes et des monocytes est due peut être à la stimulation de la lymphopoïèse et à la libération accrue des lymphocytes de la lymphe du tissu myéloïde (**Das et Mukherjee, 2003**) . Il a été rapporté que l'augmentation des taux des lymphocytes est corrélée avec l'augmentation des cytokines pro-inflammatoires (**Lasrama et al., 2014**). Plusieurs travaux ont rapporté la capacité des OP à induire la lymphocytose (**Handy et al., 2002; Elsharkawy et al.,2013; Omyma, 2012; Lasrama et al.,2014**)

Une diminution du pourcentage de granulocytes dans le sang périphérique observée chez les rats traités au fenthion peut suggérer que elles sont impliqués dans la phagocytose au cours d'une intoxication aux xénobiotiques, au cours de laquelle certains granulocytes pourraient être rompus. participant à la production de pesticides liquides, une diminution significative a été notée dans le nombre de granulocytes (**Klucinski et al., 1996**).

3.5.Effet du Fenthion sur les paramètres du test de labyrinthe en croix surélevé

D'après le test d'EPM, nous avons signalé une diminution du temps passé dans les bras ouverts et une augmentation du temps passé dans les bras fermés chez les rats traités au fenthion. La diminution de s'aventurer dans les bras ouverts dans le labyrinthe en croix surélevé est interprétée typiquement par une augmentation de l'anxiété chez le rat (**Elliott et al., 2004**). Cela révèle de l'effet anxiogène du fenthion. Nous pensons par exemple au système gabaergique dont des perturbations du fonctionnement impliquent des troubles de l'anxiété (**Mohler, 2006; Domschke et Zwanzger, 2008**). Le système cholinergique est également connu pour jouer un rôle modulateur dans la régulation de l'anxiété (**File et al., 1998; Ouagazzal et al., 1999**). Selon ce point, la stimulation des récepteurs cholinergiques peut induire des réponses anxiogènes (**Olausson et al., 1999; Ouagazzal et al., 1999**). De plus, l'anxiété relative aux OP peut résulter du stress oxydatif cérébral et de la neuro-inflammation (**Chen, 2012**).

Le changement de la concentration des neurotransmetteurs est aussi impliqué dans le développement des changements neurocomportementaux (**Oswal et al., 2012**). Dans la littérature, de nombreuses études ont montré les effets anxiogènes des OP comme le diazinon et le malathion (**Fabricio et al., 2005; Maha et al., 2013**). (**Tayaa ,2014**) a montré que l'exposition à court terme au diazinon provoque des effets anxiogènes chez la ratte Wistar. De plus, (**Maha et al., 2013**) ont montré que l'exposition subchronique au diazinon montre des effets anxiogènes chez le rat mâle Wistar.

3.6.Effet du fenthion sur les paramètres du test des champs ouverts

Au niveau de l'open field, nous avons assisté à une diminution de la distance totale parcourue, diminution du nombre de redressements, diminution du temps passé dans la zone centrale et augmentation du temps passé dans la zone périphérique. L'OF est un test utilisé pour mesurer la motricité, le degré d'anxiété et la réaction émotionnelle (**Prut et Belzung, 2003**). Par conséquent, les rats anxieux ont tendance à passer plus de temps dans les coins et

la périphérie de l'appareil plutôt que dans le centre (**Elizalde et al., 2008**), La diminution de la distance parcourue dans l'open field révèle de la diminution de l'activité locomotrice. De plus, la diminution du nombre de redressements indique une dégradation de l'activité exploratoire. Nous pouvons conclure que le fenthion altère les capacités locomotrices et exploratrices du rat. L'acétylcholine intervient dans le contrôle des muscles par l'intermédiaire des terminaisons neuromusculaires. Apportée en excès au niveau de la plaque motrice, l'acétylcholine peut inhiber les contractions musculaires consécutives à la stimulation du nerf (**Bocquene, 1996**).

Les OP exercent leur toxicité par la fixation de ses oxygènes analogues sur l'acétylcholinestérase (AChE), enzyme neuronale, provoquant ainsi une accumulation de l'acétylcholine endogène dans les tissus nerveux et les organes effecteurs (**Mayer et al., 1991**). En effet, l'accumulation de l'acétylcholine provoque des syndromes nicotiques qui associent des fasciculations musculaires et des crampes, puis une asthénie rapidement croissante par atteinte de la plaque motrice évoluant vers la paralysie des muscles striés (**Bismuth, 1993**). En outre, l'anxiété et la dépression peuvent aggraver l'hypoactivité exploratoire et ambulatoire dans l'open field.

Nos résultats sont en accord avec celles de (**Bouhali,2015 ; Virginia,1995 ; Benamara et al, 2014**)

3.7.Effet du Fenthion sur les paramètres du test de reconnaissance olfactif

L'olfaction constitue sur le plan physiologique une piste intéressante dans la dépression, du fait des connexions étroites qui existent entre les voies olfactives et les aires cérébrales impliquées dans la régulation de l'humeur et des émotions, notamment au niveau du système limbique. (**Brand et al 2017**). En plus, le système olfactif interagit directement avec l'hippocampe qui joue un rôle essentiel dans la neurogénèse (**Inserm, 2020**). Un autre argument en faveur du lien étroit entre l'odorat et la dépression est qu'un déficit de perception des odeurs peut être à l'origine de symptômes dépressifs ; plusieurs études tendent à prouver que les odeurs peuvent potentiellement avoir un impact sur l'amélioration de ces symptômes (**Brand et al 2017**). Le bulbe olfactif sert de première étape du système de traitement de l'information olfactive et peut servir de porte d'entrée pour les conséquences environnementales (**Rey et al., 2018**). Les preuves indiquent que le bulbe olfactif est une sensibilité préférentielle aux agents pathogènes exogènes ou aux toxines environnementales,

qui peuvent déclencher et propager des changements pathologiques dans tout le cerveau via les nerfs olfactifs (**Rey et al., 2018**).

Assurant la réception des molécules odorantes, les neurones olfactifs de la muqueuse olfactive (MO) sont en contact direct avec le milieu extérieur, exposés aux agressions permanentes des micropolluants, dont les pesticides. Ils constituent une voie d'entrée privilégiée de toxiques vers le bulbe olfactif (BO) puis le système nerveux central.

Nos résultats montrent, une perturbation olfactif chez les rats traités par le fenthion, ceci est put être du a la neurotoxicité induit par le fenthion (**Bouhali , 2015**).qui influence la fonction olfactive normale et provoque une dégénérescence sevère des neurones DA dans SSN ainsi que dans le bulbe olfactif.

Des études antérieures sur le modèle d'administration intranasale de roténone ont montré que la neurotoxine influence la fonction olfactive normale et provoque une dégénérescence sévère des neurones DA dans le SN ainsi que dans le bulbe olfactif (**Rodrigues et al., 2014; Sasajima et al., 2015 ; Xiaoling et al, 2020**), la neurotoxicité induite par la roténone s'est produite non seulement dans la voie nigrostriatale, mais a également conduit à de graves déficits dans le bulbe olfactif. L'analyse des changements pathologiques du bulbe olfactif a démontré que l'administration systémique à long terme de roténoné réduisait le nombre de neurones dopaminergiques dans le bulbe olfactif, ce qui était cohérent avec les résultats obtenus chez des souris traitées au roténone administrées par voie intranasale. Des études in vivo et vitro ont montré que les neurones dopaminergiques du bulbe olfactif jouent un rôle clé dans le traitement de l'information sensorielle et la discrimination des odeurs (**Banerjee et al., 2015; Liu et al., 2013**). Outre les preuves de plus en plus nombreuses que la réponse inflammatoire dans le bulbe olfactif est un signal régulateur majeur pour le dysfonctionnement olfactif des maladies neurodégénératives.

3.8.Effet du fenthion sur l'activité cholinestérasique

Il est connu que la plupart insecticides organophosphorés possèdent des effets neurotoxiques. Récemment, certaines études ont montré cet effet neurotoxique chez d'autres famille de pesticides (**Kamel et Hoppin, 2004**).

L'acétylcholinestérase (AChE) est une enzyme caractéristique des jonctions neuromusculaires des insectes et des vertébrés responsables de l'hydrolyse du

neurotransmetteur acétylcholine (ACh), de sorte que l'activation des récepteurs cholinergiques est transitoire. L'AChE des insectes est la principale cible des organismes nuisibles aux OP

en phosphorylant le groupe hydroxyle sérine situé dans le site actif de l'AChE, inhibe son activité (**Ozmen et al., 1999**).

Nos résultats ont révélé que chez les groupes de rats traités par le fenthion il y a une diminution de l'activité de l'AChE. Cette diminution peut être expliquée par la production et l'accumulation de ROS suite à l'administration de ce pesticide, ce qui entraîne des dommages à l'ADN et aux phospholipides membranaires ainsi qu'une inhibition de l'AChE (**Yu et al., 2008**). Le mécanisme principal de la toxicité du fenthion implique l'inhibition d'AChE (**Yu et al., 2008; Liu et al., 2013; Bouhali, 2015**), qui régule la neurotransmission aux synapses cholinergiques centrales et périphériques (**Campbell et al., 1997, Steevens et Benson, 1999**).

Plus récemment, il a été démontré que l'exposition à court terme au chlorpyrifos (un organophosphore) sur le corps entier chez le rat provoquait une inhibition significative de l'activité de l'AChE dans différents tissus, notamment le foie, les reins et la rate (**Tuzmen et al., 2008**).

Nos résultats sont compatibles avec d'autres études (**Verma et al., 2007; Acker et Nogueira, 2012; Wang et al., 2014; del Pino et al., 2015; Bouhali, 2015**).

L'inhibition irréversible de l'AChE par les OP conduit à une accumulation de l'acétylcholine dans les synapses neuronales induisant un état de stress cholinergique et ainsi la dépréciation ultérieure de nombreuses fonctions du corps (**Bartling et al., 2007**).

Conclusion

Et

Perspectives

4. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Nous pouvons conclure que l'exposition répétée pendant 30 jours consécutifs au Fenthion à raison de 1.35 mg/kg /j de poids corporel chez les rats mâles et femelles adultes de la souche Wistar provoque des réponses anxiogènes associées à des altérations olfactives et diminution de l'activité exploratoire et locomotrice. Ces perturbations neurocomportementales sont associées d'une part, au développement d'un stress oxydatif hépatiques, se manifestant notamment par une augmentation de la peroxydation lipidique (MDA) avec une diminution de la quantité de GST, et d'autre part, à la perturbation des paramètres immunitaires (leucocytes) et biochimiques (Glycémie, Cholestérol, ALAT, ASAT). En outre, une diminution de l'activité de l'enzyme acétylcholinestérase a été observée.

A partir de ces résultats, il serait intéressant de dégager les perspectives suivantes:

- ✓ Approfondir l'étude par une étude histologique visant à localiser les dégâts tissulaires engendrés par le pesticide.
- ✓ Etablir un modèle de neurotoxicité développementale et apprécier l'effet sur la progéniture.
- ✓ Appuyer les résultats par une exploration hormonale notamment en déterminant le taux de certains Neuro médiateurs récepteurs dans le comportement animal.
- ✓ Apprécier le rôle neuro-protecteur de quelques plantes médicinales anti-oxydantes comme éphédra alata , Ashwaghanda , spiruline....

*Références
Bibliographiq
ues*

Abdollahi M, Donyavi M, Pournourmohammadi S & Saadat M. (2004). Hyperglycemia associated with increased hepatic glycogen phosphorylase and phosphoenolpyruvate carboxykinase in rats following sub chronic exposure to malathion. *Comparative Biochemistry Physiology* 137:247–343.

Abdollahi M., Ranjbar A., Shadnia S., Nikfar S., & Rezaiee A. (2004). Pesticides and Oxidative stress: a review. *Med. Sci. Monit.* 10: 141-147.

Ajay, G., Vijayta, D., & Dhawan, D.K. (2005). Protective effects of zinc on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and hepatic histoarchitecture in chlorpyrifos induced toxicity. *Chemico-Biological Interactions.* 156: 131-140.

Akande M.G., Aliu Y.O., Ambali SF, & Ayo J.O. (2014). Co-treatment of chlorpyrifos and lead induce serum lipid disorders in rats: Alleviation by taurine. *Toxicol. Ind. Health.* doi: 10.1177/0748233714560394.

Alavanja, M.C., Hoppin, J.A., & Kamel, F. (2004). Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity. *Annu Rev Public Health.* 25 :155-197.

Aligan , D ; Bonneau, J ; Garcia, G ; Gomez, D ; & Le Goff, D. (2010) .Estimation des expositions de la population générale aux insecticides : les organochlorés, les organophosphorés et les pyrèthronoïdes . Ecole des Hautes Etudes en santé publique pp :21-23- 24.

Aiche , M (2017). Impact d'un mélange de pesticides sur quelques paramètres physiologiques et sur la santé cellulaire . Thèse de doctorat . Université Badji Mokhtar Annaba PP : 19 -20

Albeanu, D.F. (2015). An interglomerular circuit gates glomerular output and implements gain control in the mouse olfactory bulb. *Neuron*87, 193-207.

ACTA (2005). Index Phytosanitaire. 41^{ème} éd. Paris. France. p820.

Amin K.A., & Hashem K.S. (2012). Deltamethrin-induced oxidative stress and biochemical changes in tissues and blood of catfish (*Clarias gariepinus*): antioxidant defense and role of alpha-tocopherol. *BMC Vet Res.* doi: 10.1186/1746-6148-8-45.

Arias-Estévez M, López-Periago E, Martínez-Carballo E, Simal-Gándara J, Mejuto JC, & García-Río L (2008). The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of ground water resources. *Agriculture Ecosystems & Environment* 123(4): 247-260.

Aubertot., J.N; Barbier., J.M., Carpentier,A ;Gril Guichard, L Lucas, P; Savary, S; & Savini, M. (2005). Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Rapport d'expertise scientifique collective, INRA et Cemagref (France)..
http://www.inra.fr/l_institut/expertise/expertises_realisees/pesticides_agriculture_et_environnement

Banerjee, A., Marbach, F., Anselmi, F., Koh, M.S., Davis, M.B., da Silva, P.G., Delevich, K., Oyibo, H.K., Gupta, P., Li, B., Rozemuller, A.J., Hoogland, P.V., Lucassen, P.J., Drukarch, B., van de Berg, W.D., & Van Dam, AM. (2014). Increase damoeboid microglial density in the olfactory bulb of Parkinson's and Alzheimer's patients. *Brain Pathol.* 24, 152–165.

Bartling A, Worek F, Szinicz L, & Thiermann H. (2007). Enzyme-kinetic investigation of different sarin analogues reacting with human acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *Toxicology* 233: 166–172.

Baris, D., Silverman, D. T., Brown, L. M., Swanson, G. M., Hayes, R. B., Schwartz, A. G., Liff, J. M., Schoenberg, J. B., Pottern, L. M., Greenberg, R. S Rozemuller, A.J., Hoogland, P.V., Lucassen, P.J., Drukarch, B., van de Berg, W.D., & Van Dam, AM. (2014). Increase damoeboid microglial density in the olfactory bulb of Parkinson's and Alzheimer's patients. *Brain Pathol.* 24, 152–165.

Bhaskar R., & Mohanty B. (2014). Pesticides in mixture disrupt metabolic regulation: In silico and in vivo analysis of cumulative toxicity of mancozeb and imidacloprid on body weight of mice. *General and Comparative Endocrinology* 205: 226–234

Belhaouchet N (2014). Evaluation de la toxicité du Spinosad « insecticide nouvellement introduit en Algérie » sur un modèle expérimental bioindicateur de la pollution « *Helix aspersa* ». These Doctorat LMD. Université Badji Mokhtar-Annaba. pp:17-82.

Benmara I, Sifi M, Troudi A, Soudani N, Boudawara T, & Zeghal N. (2014). Fenthion, an organophosphorus pesticide, induces alterations in oxydant/antioxydant status and

histological disorder in cereberrum and cerebellum suckling rat. Indian journal of Biochemistry and Biophysic51:293-301.

Beishuizen A., & Thijs L.G(2003). Endotoxin and the hypothalamo–pituitary–adrenal (HPA) axis. J. EndotoxinRes. 9: 3–24

Blair, A., Zheng, T., Linos, A., Stewart, PA., Zhang, YW., & Cantor, K P (2001). Occupation and leukemia: a population-based case-control study in Iowa and Minnesota. Am J Ind Med. 40(1); 3-14.

Bjørling-Poulsen M, Andersen H.R, & Grandjean P (2008). Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe. Environmental Health. 7: 50.

Birben E., Sahiner U.M., Sackesen C., Erzurum S., Rozemuller, A.J., Hoogland, P.V.,Lucassen, P.J., Drukarch, B., van de Berg, W.D., & Van Dam, AM. (2014). Increase damoeboïd microglial density in the olfactory bulb of Parkinson’s and Alzheimer’s patients. Brain Pathol. 24, 152–165.

Bismuth C. (1993). Armes chimiques, description et risques toxiques. Réanimation Urgence; 2:625-633.

Bocquene G, 1996. L’acétylcholinestérase, marqueur de Neurotoxicité. Application à la surveillance des effets biologiques des polluants chez les organismes marins. Thèse deDoctorat, Ecole Pratique des Hautes Etudes, pp250.

Bonnefont-Rousselot D., Théron P., & Delattre J (2003). Radicaux libres et antioxydants. En : Delattre J., Durand G., Jardillier J-C. Biochimie pathologique. Flammarion, Paris. p317

Bourbia S (2013). Évaluation de la toxicité de mixtures de pesticides sur un bio-indicateur de la pollution des sols *Helix aspersa*, These Doctorat. Univ Annaba. pp 177.

Boubali Z (2017). Biomarqueurs du stress oxydatif. Thèse de Doctorat, Université Mohamed V-Rabat. p134.

Bouhali IE (2015). Etude de l’effet d’un flavonoïde (quercétine) et d’un stilbénoloïde (resvératrol) sur la toxicité induit par le fenthion chez le rat male wistar.

Bradford M (1976). A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochemistry 72: 248-254.

Buzio, L., Tondel, M., De Palma, G., Buzio, C., Franchini, I., Mutti, A. & Axelson, O., (2002). Occupational risk factors for renal cell cancer. An Italian case-control study. *Med Lav.* 93(4); 303-309.

Cadenas E. (2005). Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trendes Pharmacol Sci.* 26 : 190-5.

Cai H & Harrison D.G. (2000). Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ. Res.* 87(10): 840-844.

Calvet . R, Barriuso .E, Bedos . C, Benoit .P, Charnay M.P, Rozemuller, A.J., Hoogland, P.V.,Lucassen, P.J., Drukarch, B., van de Berg, W.D., & Van Dam, AM. (2014). Increase damoeboid microglial density in the olfactory bulb of Parkinson's and Alzheimer's patients. *Brain Pathol.* 24, 152–165.

Carmin IA & Cristina WN. (2012). Chlorpyrifos acute exposure induces hyperglycemia and hyperlipidemia in rats. *Chemosphere* 89 :602–608

Carrière A., Galinier A., Fernandez Y., Carmona M.C., Pénicaud L Rozemuller, A.J., Hoogland, P.V.,Lucassen, P.J., Drukarch, B., van de Berg, W.D., & Van Dam, AM. (2014). Increase damoeboid microglial density in the olfactory bulb of Parkinson's and Alzheimer's patients. *Brain Pathol.* 24, 152–165.

Casteilla L. (2006). Les espèces actives de l'oxygène : le yin et le yang de la mitochondrie. *22(1):* 47-53.

Cempel M & Janicka K (2002). Distribution of nickel, zinc, and copper in rat organs after oral administration of nickel(II) chloride *Biological Trace Element Research* 90: 215.

Chen Y. (2012). Organophosphate-induced brain damage: mechanisms, neuropsychiatric and neurological consequences, and potential therapeutic strategies. *Neurotoxicology* 33:391–400.

Coquet, Y (2005) . Les pesticides dans le sol, conséquences agronomiques et environnementales . Edition France Agricole ISBN 2-85557-119-7, p :21.

Coquet .Y (2005) . Les pesticides dans le sol, conséquences agronomiques et environnementales . Edition France Agricole ISBN 2-85557-119-7, p :21.

Corsini E, Sokooti M, Galli C.L, Moretto A, Rozemuller, A.J., Hoogland, P.V.,Lucassen, P.J., Drukarch, B., van de Berg, W.D & Van Dam, AM. (2014). Increase damoeboid

microglial density in the olfactory bulb of Parkinson's and Alzheimer's patients. *Brain Pathol.* 24, 152–165.

Colosio C (2013). Pesticide induced immunotoxicity in human: a comprehensive review of the existing evidence. *Toxicology.* 307: 123-135.

Dawson. G.R., Crawford. S.P., Collinson. N., Iverson. S.D. Rozemuller, A.J., Hoogland, P.V., Lucassen, P.J., Drukarch, B., van de Berg, W.D., & Van Dam, AM. (2014). Increase damoeboid microglial density in the olfactory bulb of Parkinson's and Alzheimer's patients. *Brain Pathol.* 24, 152–165.

Domschke K & Zwanzger P. (2008). GABAergic and endocannabinoid dysfunction in anxiety -future therapeutic targets? *Current Pharmaceutical Design.*14: 3508-3517.

Damien .A, Justin .B, Julian .G, Didier .G Rozemuller, A.J., Hoogland, P.V., Lucassen, P.J., Drukarch, B., van de Berg, W.D., & Van Dam, AM. (2014). Increase damoeboid microglial density in the olfactory bulb of Parkinson's and Alzheimer's patients. *Brain Pathol.* 24, 152–165.

Damien, L (2010). Projet d'estimation des risques sanitaires , estimation des expositions de la population générale aux insecticides : les organochlorés , les organophosphorés et les pyréthrinoides, école des hautes études en santé publique(EHESP) ,PP : 21-24.

Das BK & Mukherjee SC.(2003).Toxicity of cypermethrin in *Labeo rohita* fingerlings: biochemical, enzymatic and hematological consequences. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C,* 134:109-121.

El-Demerdash F.M (2004). Antioxidant effect of vitamin E and selenium on lipid peroxidation, enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminium. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.* 18: 113-121.

Elhalwagy MEA, Darwish NS, & Zaher EM. (2008). Prophylactic effect of green tea polyphenols against liver and kidney injury induced by fenitrothion insecticide. *Pesticide Biochemistry Physiology* 91:81–89.

Elliott BM, Faraday MM, Phillips JM, & Grunberg NE. (2004). Effects of nicotine on elevated plus maze and locomotor activity in male and female adolescent and adult rats, *Pharmacology Biochemistry Behavior* 77:21-28.

Elizalde N, Gil-Bea FJ, Ramirez MJ, Aisa B, & Lasheras B, (2008). Long-lasting behavioral effects and recognition memory deficit induced by chronic mild stress in mice : effect of antidepressant treatment. *Psychopharmacology*;199(1):1-14.

El Missiry M.A., & Othman A.I. (1993). Influence of lannate on biochemical and hematological parameters in old rats. *J. Egypt. Ger. Soc. Zool.* 11: 219-229.

Errami M (2012). Devenir atmosphérique e de bupirimate et transfert de ses métabolites (les diazines) dans l'atmosphère, sa dissipation dans les fruits de tomate et sa dégradation électrochimique. Thèse en Co-tutelle . Université Ibn Zohr & Université de Reims ChampagneArdenne , pp :11-12.

Fabricio LA, K^enia DZ, Patr'icia S, Brocardo PP, Ana LS, Reinaldo N. Ti. (2005). Behavioral effects and AChE measures after acute and repeated administration of malathion in rats, *Environmental Toxicology and Pharmacology* 20:443–449.

Fan G, Tang JJ, Bhadauri M, Niral SK, Dai F, Zhou B, Li Y, & Liu ZL. (2009). Resveratrol ameliorates carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 28,350–356

Favier A. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanismes biochimiques. L'actualité Chimique.* 108-115.

File. SE., Zangrossi. HJR., Sanders. FL. & Mabbutt PS (1994). Raised corticosterone in the rat after exPellow. CP., File. SE. and Briley. M., 1985. Validation of open : closed arm entries in Elevated plus maze as a measures of anxiety in the rat. *J. Neurosci Methods.* 14 :149posure to the elevated plus-maze. *Psychopharmacology (Berl)*; 113:543-546.

Francis, JL., & Barnes, J M. (1963). Studies on the mammalian toxicity of fenthion. *Bulletin of the World Health Organization*, 29(2), 205. P: 1.

Gasmi Salim, Neurotoxicité de deux pesticides (Acetamipride et Deltamethrine) et la prévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat, 2018, Thèse Doctorat, Université de Tébessa. 217p.

Gamet-Payraastre L. (2011). Effets physiopathologiques des mélanges de pesticides. Original Research Article Cahiers de Nutrition et de Diététique. 46 (2) : 82-85.

Ghafourifar P, Rozemuller, A.J., Hoogland, P.V., Lucassen, P.J., Drukarch, B., van de Berg, W.D., & Van Dam, AM. (2014). Increase damoeboid microglial density in the olfactory bulb of Parkinson's and Alzheimer's patients. Brain Pathol. 24, 152–165.

GokceUzun F et Kalender Y. (2013). Chlorpyrifos induced hepatotoxic and hematologic changes in rats: The role of quercetin and catechin. Food and Chemical Toxicology 55:549–556.

Green Peace Santé (2015): les pesticides sèment le trouble ; greenpeace.fr.

Guler , GO, Cakmak YS, Dagli Z, Aktumsek A Rozemuller, A.J., Hoogland, P.V., Lucassen, P.J., Drukarch, B., van de Berg, W.D., & Van Dam, AM. (2014). Increase damoeboid microglial density in the olfactory bulb of Parkinson's and Alzheimer's patients. Brain Pathol. 24, 152–165.

Hall CS .(1934). Emotional behaviour in the Rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. J. Comp. Psychol. 385-403.

Hai D.Q., Varga S.I., & Matkovics B. (1997) .Organophosphate effects on antioxidant system of carp (*Cyprinus carpio*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*). Comp. Biochem. Physiol. 117 (1):83–88.

Halliwell B., & Gutteridge J.M.C. (1995). The definition and measurement of antioxidants in biological systems. Free Radic Biol Med. 18:125–126.

Handy RD, Abd-El Samei HA, Bayomyv MFF, Mahran AM, Abdeen AM, & El-Elaimy EA. (2002) .Chronic diazinon exposure: pathologies of spleen, thymus, blood cells, and lymph nodes are modulated by dietary protein or lipid in the mouse. Toxicology 172: 13–34.

Hardy, L., Eriksson, M., & Nordstrom, M. (2002). Exposure to pesticides as risk factor for non-Hodgkin's lymphoma and hairy cell leukemia: pooled analysis of two Swedish case-control studies. Leuk Lymphoma. 43(5); 1043-1049.

Harman D (2000). Aging: overview. Ann.NY.Acadsci. 928 :1–21.

Hu, J., Mao, Y., & White, K., (2002). Renal cell carcinoma and occupational exposure to chemicals in Canada. *Occup Med (Lond)*. 52(3); 157-164.

Joshi, S.C., Mathu,r R., & Gulati, N. (2007). Testicular toxicity of chlorpyrifos (an organophosphate pesticide) in albino rat. *Toxicol.Ind.Health*.23(7):439-44

Johnson. LR., Farb. C., Morrison. JH., McEwen. BS., & LeDoux JE (2005). Localization of glucocorticoid receptors at postsynaptic membranes in the lateral amygdala. *Neuroscience* . 136:289-99.

Khan SM., Sobti RC., &Kataria L. (2005). Pesticide-induced alteration in mice hepato-oxidative status and protective effects of black tea extract *Clinica Chimica Acta*. 358:131–138.

Kalender S, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Acikgoz F, Durak D, Ulusoy Y, , & Kalender Y. (2005). Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. *Toxicology* 211:197–206

Kalender S., Uzun F.G., Durak D., Demir F., & Kalender Y. (2010). Malathion-induced hepatotoxicity in rats: The effects of vitamins C and E. *Food and Chemical Toxicology*. 48: 633-638

Kalayci O. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organ J*. 5(1): 9–19.

Kandil MA, El-Kashoury AA,El-Said MM, & El-Herrawy MA. (2006), Interactive effects of imidacloprid, profenofos and carbosulfan at low concentrations on homeostasis and haematological indices in male albino rats. *Journal Egyptian Society Toxicology* 35:69-78.

Kerem M, Nurdan B, Neslihan G, Özgür E, Abdulkadir , Taylan , &Ömer , Hatice (2007). Effects of Acute Fenthion Toxicity on Liver and Kidney Function and Histology in Rats. *Turkish Journal of Medical Sciences* 37(5): 281-288.

Khani S., Tayek, J.A. (2001). Cortisol increases gluconeogenesis in humans: its role in the metabolic syndrome. *Clin. Sci. (Lond.)* 101:739–747.

Kioukia-Fougia N, Antoniou K, Bekris S, Liapi C, Christofidis I, &Papadopoulou-Daifoti Z. (2002). The effects of stress exposure on the hypothalamic–pituitary–adrenal axis,

thymus, thyroid hormones and glucose levels. *Progress in Neuro -Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 26(5):823–830.

Klucinski P, Hrycek H, Stasiura –Zielinska S, Kossmann J, Tustanowski D, & Kaminska-Kolodziej B. (1996). Humoral and cellular immunity rates in chemical plant workers employed in the production of liquid pesticides. *Int J Occup Med Environ Health*; 9:103-110.

Kohl, Z., Schlachetzki, J.C., Feldewerth, J., Hornauer, P., Muench, M., Adame, A., Riemenschneider, M.J., Winkler, J., & Masliah, E. (2017). Distinct pattern of microgliosis in the olfactory bulb of neurodegenerative proteinopathies. *Neural Plast.*, 3 :851-262.

Kuzu N, Metin K, Ferda Dagli A, Akdemir F, Orhan C, & Yalniz M (2007). Protective role of genistein in acute liver damage induced by carbon tetrachloride. *Mediators Inflammation*; 1–6.

Lauwerys, R., Haufroid, V., Hoet, P., & Lison, D (2007). Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. 1e édition 1972 chez Duculot .ISBN : 978-2-294-01418-5 ,p p295,296.

Lasram MM, Annabi AB, Elj N, Selmi S, Kamoun A, & El-Fazaa S, Gharbi N. (2009). Metabolic disorders of acute exposure to malathionin adult Wistar rats. *Journal Hazardous Materials*.163:1052–1055.

Lasrama MM, Bini Dhouiba I,c, Bouzidb K, Jrad Laminea A, Annabia A, Belhadjmidac N, Ben Ahmedc M,El Fazaaa S, Abdelmoulab J, & Gharbi N (2014). Association of inflammatory response and oxidative injury in the pathogenesis of liver steatosis and insulin resistance following subchronic exposure to malathion in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 38 : 542–553

Lister RG (1987). The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology*. 92: 180-185. The murine elevated plus-maze test of anxiety. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 52: 297-303.

Litovitz TL, Martin TG & Schmitz B. (1986). Annual report of the American Association of Poison Control Centers national data collection system. *Am J Emerg Med* 1987 ; 5 : 405-45.

Liu, S., Plachez, C., Shao, Z., Puche, A & Shipley, MT (2013). Olfactory bulb short axon cell release of GABA and dopamine produces a temporally biphasic inhibition-excitation response in external tufted cells. *J. Neurosci.* 33, 2916-2926.

Ma P., Wu Y., Zeng Q., Gan Y., Chen J., Ye X., & Yang X. (2013). Oxidative damage induced by chlorpyrifos in the hepatic and renal tissue of Kunming mice and the antioxidant role of vitamin E. *Food and Chemical Toxicology.* 58:177–183.

Maha AE, Hebatalla IA, & Engy ME. (2013). Melatonin Protects Against Diazinon-Induced Neurobehavioral Changes in Rats. *Neurochemistry Research* 38:2227–2236.

Mansour S.M., Bahgat A.K., El-Khatib A.S., & Khayyal MT (2011). Ginkgo biloba extract (EGb 761) normalizes hypertension in 2K, 1C hypertensive rats: Role of antioxidant mechanisms, ACE inhibiting activity and improvement of endothelial dysfunction. *Phytomedicine.* 18: 641–647.

Mattsson J.L., Wilmer J.W., Shankar M.R., Berdasco N.M., Crissman J.W., Maurissen J.P., & Bond D.M. (1996). Single-dose and 13-week repeated-dose neurotoxicity screening studies of chlorpyrifos insecticide. *Food and Chemical Toxicology.* 34(4) :393-405.

Medjdoub A., (2013). Evaluation des effets métaboliques d'un gavage par les pesticides (Mancozèbe, Métribuzine) chez le rat Wistar. En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat. *En Physiologie et Biochimie de la Nutrition* .p :132.

Mills, PK. & Yang, R. (2003). Prostate cancer risk in California farm workers. *J Occup Environ Med.* 45(3); 249-258.

Mnif W, Hassine A, Bouaziz A, Bartegi A, Thomas O & Roig B.(2011). Effect of endocrine disruptor pesticides: A review. *International Journal of Environmental Research and Public Health.* 8: 2265-2303.

McCauley, L. A., Anger, W. K., Keifer, M., Langley, R., Robson, M. G., & Rohlman, D., (2006). Studying health outcomes in farmworker populations exposed to pesticides. *Environ Health Perspect.* 114(6); 953-960.

McMichael M. (2007). Oxidative stress, antioxidants, and assessment of oxidative stress in dogs and cats. *JAVMA.* 231(5): 714-720.

- McMillen I.C. Adam C.L. & Mühlhäusler B.S (2005).** Early origins of obesity: programming the appetite regulatory system. 565 :9-17.
- Mohler H (2006).** GABAA receptors in central nervous system disease: anxiety, epilepsy, and insomnia. *Journal of Receptors and Signal Transducers Research* 26: 731-740.
- Moller P., Wallin H. & Knudsen L.E. (1996).** Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors. *Chemico-Biological Interactions*. 102 (1):17-36.
- Mossa A-T.H., Heikal T.M., & Omara E.A.Z. (2014).** Liver damage associated with exposure to aspirin and diazinon in male rats and the ameliorative effect of selenium. *Biomed. Aging. Pathol.*
- Navarro C, Montilla P, Martin A, Jimenez J, & Utrilla P (1993).** Free radicals scavenger and antihepatotoxic activity of Rosmarinus. *Planta Medica*. 59: 312–314.
- Ouagazzal AM, Kenny PJ, & File SE (1999).** Modulation of behaviour on trials 1 and 2 in the elevated plus-maze test of anxiety after systemic and hippocampal administration of nicotine. *Psychopharmacology*144:54.
- Omyma GA. (2012)** Immune Modulating Effects of Malathion with the Role of Bradykinin Potentiating Factor in Juvenile Male Rats.*Ibnosina Journal of Medicine and Biomedical Sciences*. 5: 151-169.
- Ogut S., Gultekin F., Kisioglu A.N., & Kucukoner E. (2011).** Oxidative stress in the blood of farm workers following intensive pesticide exposure. *Toxicol Ind Health*. 27(9):820-5.
- Ogutcu A, Suludere Z, & Kalender Y. (2008).** Dichlorvos-induced hepatotoxicity in rats and the protective effects of vitamins C and E. *Environmental Toxicology Pharmacology*. 26:355–361.
- Olausson P, Engel JA, & Soderpalm B. (1999).** Behavioral sensitization to nicotine is associated with behavioral disinhibition, counteraction by citalopram. *sychopharmacology* 142:111.
- Oswal DP, Garrett TL, Morris M, & Lucot JB .(2012).** Low-dose sarin exposure produces long term changes in brain neurochemistry of mice. *Neurochemistry Res* 38:108–116.

Ozparlak H (2010). Organochlorine pesticide residues in wheat from Konya region, Turkey. *Food and Chemical Toxicology* 48: 1218-1221.

Pandey SP & Mohanty B (2015). The neonicotinoid pesticide IMD and the DTC fungicide mancozeb disrupt the pituitary-thyroid axis of a wildlife bird *Chemosphere*. MAR 122(2): 27-34

Pimentel D (1995). Amounts of pesticides reaching target pest: environmental impacts and ethics. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics* 8: 17-29

Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K. & Defraigne JO. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense anti-oxydante Physiological action of antioxydant défences. *Nutrition clinique et métabolisme*. 16: 233-239.

Possamai F.P., Fortunato J.J., Feier G., Agostinho F.R., Quevedo J., Wilhelm Filho D., & Dal-Pizzol F. (2007). Oxidative stress after acute and sub-chronic malathion intoxication in Wistar rats. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 23: 198-204.

Powers S., Jackson M. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol. Rev.* 88: 1243-1276.

Provost, D., Cantagrel, A., Lebailly, P., Jaffre, A., Loyant, V., Loiseau, H., Vital, A., Brochard, P., & Baldi, I., (2007). Brain tumours and exposure to pesticides: a casecontrol study in southwestern France. *Occup Environ Med.* 64(8); 509-514.

Prut, L., & Belzung C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology* 463: 3-33. *Psychiatry* 37:235–244.

Rahimi R., & Abdollahi M., (2007). A review on mechanisms involved in hyperglycemia induced by organophosphorus insecticides. *Pest. Biochem. Physiol.* 88: 115–121.

Raina R., Baba N.A., Verma P.K., Sultana M., & Singh M. (2015). Hepatotoxicity Induced by Subchronic Exposure of Fluoride and Chlorpyrifos in Wistar Rats: Mitigating Effect of Ascorbic Acid. *Biol Trace Elem Res.* 166:157-62

Ramirez D.C., Gomez-Mejiba S.E., Corbett J.T., Deterding L.J., Tomer K.B & Mason R.P. (2008). Cu/Zn-Superoxide Dismutase-driven Free Radical Modifications: Copper-and Carbonate Radical Anion-initiated Protein Radical Chemistry. *Biochemical Society.* 10: 1-25.

Rey, N.L., Wesson, D.W., Brundin, P. (2018). The olfactory bulb as the entry site for prion-like propagation in neurodegenerative diseases. *Neurobiol. Dis.* 109, 226–248.

Repetto, M., Repetto, J., & Semprine A (2012). Boveris Lipid Peroxidation: Chemical Mechanism, Biological Implications and Analytical Determination. In: Catala, A. (Ed), *Lipid Peroxidation Intech* 1–28.

Ritz P., Sallé A. & Couet C. (2007). How can we explain weight stability following weight loss? *Revue Obésité.* 1: 72-78.

Roberts T & Hutson D (1999). *Metabolic Pathways of Agrochemicals.* 2. Insecticides and fungicides. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry, 326–331.

Robineau P. & Mercier T. (2012). Quelle évaluation pour les produits phytopharmaceutiques Which assessment for plant protection products *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement.* 6 : 927–933.

Rodrigues, L.S., Targa, A.D., Nosedá, A.C., Aurich, M.F., Da Cunha, C & Lima, M.M., (2014). Olfactory impairment in the rotenone model of Parkinson's disease is associated with bulbar dopaminergic D2 activity after REM sleep deprivation. *Front. Cell. Neurosci.* 8, 383.

Rozemuller, A.J., Hoogland, P.V., Lucassen, P.J., Drukarch, B., van de Berg, W.D., & Van Dam, A.M. (2014). Increase of amoeboid microglial density in the olfactory bulb of Parkinson's and Alzheimer's patients. *Brain Pathol.* 24, 152–165.

Ross J.H., Driver J.H., Lunchick C., Wible C & Selman F. (2006). Pesticide exposure monitoring databases in applied risk analysis. *Rev Environ Contam Toxicol.* 186: 107-32.

Saoudi M., Messarah M., Boumendjel A., Jamoussi K & El Feki A (2011). Protective effects of vitamin C against haematological and biochemical toxicity induced by deltamethrin in male Wistar rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 74: 1765-1769.

Saïssy. J.M & Rüttimann. M (1999). Intoxication par les organophosphorés , Département d'anesthésie-réanimation, HIA Bégin, 69, avenue de Paris, 94163 Saint-Mandé cedex ; (2) Brigade des sapeurs-pompiers de Paris, 55, boulevard de Port-Royal, 75013 Paris, France , p:1

Sargis RM. (2014). The hijacking of cellular signaling and the diabetes epidemic: mechanisms of environmental disruption of insulin action and glucose homeostasis. *Diabetes Metab.*28:13–24.

Sasajima, H., Miyazono, S., Noguchi, T., & Kashiwayanagi, M. (2015). Intranasal administration of rotenone in mice attenuated olfactory functions through the lesion of dopaminergic neurons in the olfactory bulb. *Neurotoxicology* 51, 106–115.

Severin, F (2002) .Panorama des différents moyens de protection , pp:213-224 . In pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement . ACTA, édition ministère de l'écologie et du développement durable, Paris.

Schrader G (1960). Hofchen-Briefe, Bayer P flanzenschutz-Nachrichten, 13 (1): 1.

Sidhu IPS., Bhatti JS., Bhatti GK. (2014). Modulatory action of melatonin against chlorpyrifos induced hepatotoxicity in Wistar rats. *Asian Journal of Multidisciplinary Studies.* 2: 123-131.

Sisein EA (2014). Biochemistry of Free Radicals and Antioxidants. *Scholars Academic Journal of Biosciences (SAJB).* Sch. Acad. J. Biosci. 2(2): 110-118

Soubrie, P & Boissier, J. R. (1972). Redressements et comportement exploratoire chez le rat. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 274, 2534--2536

Stachowski-Haberkorn S (2008). Méthodes d'évaluation de l'impact de pesticides sur le phytoplancton marin et le naissain d'huître creuse Université de Bretagne Occidentale. Pp :187.

Stewart, P. A (2004). Occupation, pesticide exposure and risk of multiple myeloma. *Scand J Work Environ Health.* 30(3); 215-222.

Tarek MH, Abdelwaha H, Mossa M, Mona A, Abdelrasoul L, Gehan I, & Marei KH. (2013). The ameliorating effect of green tea extract against cyromazine and chlorpyrifos induced liver toxicity in male rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 6: 48-55.

Tayaa H. (2014). Impact de l'exposition gestationnelle au diazinon sur les rattes wistar et sur le neurodéveloppement de leur progéniture. Thèse de doctorat es sciences, pp 107.

Testud, F & Grillet JP (2007). Insecticides organophosphorés, carbamates, pyréthriinoïdes de synthèse et divers. EMC. Toxicologie-Pathologie Professionnelle. 16- 059-C-1.

Testud, F & Bougon, D. (2009). Intoxication sévère par un insecticide organophosphoré après accident de pulvérisation aérienne. Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement, 70(4), 465-470. PP :467- 468 -469.

Thiebot, M.H., Soubrie, P., Simon, P., & Boissier, JR. (1973). Dissociation de deux composantes du comportement chez le rat sous l'effet de psychotropes. Psychopharmacologia, 31(1), 77-90. P:78

Timbrell, JA., Draper, R & Waterfield CJ (1994). Biomarkers in toxicology: new uses for some old molecules? Toxicology and Ecotoxicology News 1(1): 4-14.

Tessier F & Marconnet P. (2015). Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. Science & Sports. 10(16): 1-13

Toumi , H (2013). Ecotoxicité de la deltaméthrine et du malathion sur différentes souches de *Daphnia magna*. Thèse de Doctorat en cotutelle entre l'université de Lorraine et l'université de Carthage. p208.

Tricklebank. MD (1995). Evidence that the anxiolytic-like effects of chlordiazepoxide on the elevated plus maze are confounded by increases in locomotor activity. Psychopharmacology (Berl) .118: 316-323.

Turdean, G., Popescu, I. C. & Oniciu, L.(2002). Biocapteurs ampérométriques a cholinestérasas pour la détermination des pesticides organophosphorés. Canadian journal of chemistry, 80(3), pp :316

Tuzmen N.,Candan N.,Kaya E., & Demiryas N., (2008). Biochemical effects of chlorpyrifos and deltamethrin on altered antioxidative defense mechanisms and lipid peroxidation in rat liver. cell biochemistry and function. 26(1):119-24

Utip B, Young B, Ibiang E, Victor I, Bassey E, & Francis A (2013). Effect of Deltamethrin and Ridomil on Sperm Parameters and Reproductive Hormones of Male Rats. Toxicol Environ Health. 9-14.

Van Leeuwen, J. A., Waltner-Toews, D., Abernathy, T., Smit, B., & Shoukri, M. (1999). Associations between stomach cancer incidence and drinking water contamination with

atrazine and nitrate in Ontario (Canada) agroecosystems, 1987-1991. *Int J Epidemiol.* 28(5); PP:836-840.

Van Maele-Fabry, G., Duhayon, S. & Lison, D. (2007). A systematic review of myeloid leukemias and occupational pesticide exposure. *Cancer Causes Control.* 18(5); 457- 478.

Valko M., Rhodes C., Moncol J., Izakovic M. & Mazur M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions.* 160: 1-40.

Viala , A. & Botta, A (2007) .*Toxicologie . 2e édition, 2e tirage. ISBN : 2-7430-0678-1 . PP :995-996.*

Virginia CM (1995). Comparisons of the Acute Effects of Cholinesterase Inhibitors Using a Neurobehavioral Screening Battery in Rats. *Neurotoxicology and Teratology* 17(6): 617-625.

Weiss. SM., Wadsworth. G., Fletcher. A. & Dourish. CT (1998). Utility of ethological analysis to overcome locomotor confounds in elevated maze models of anxiety. *Neurosci Biobehav Rev.* 23: 265-271.

WHO (2004). Specifications and evaluations for public health pesticide, fenthion.

Xiaoling Zhanga, Wenmin Huang, Qianhang Shaod, Yuan Yang, Zhengxin Xua, Jing Chena, Xiaoyan Zhanga, & Xiaoqun G (2020). Drp1, a potential therapeutic target for Parkinson's disease, is involved in olfactory bulb pathological alteration in the Rotenone-induced rat model *Toxicology Letters.* 325, 1-13.

Yousef MI, El-Demerdash FM, Kamel KI, & Al-Salhen KS (2003). Changes in some hematological and biochemical indices of rabbits induced by isoflavones and cypermethrin. *Toxicology.* 2003b; 189: 223–234.

Yurumez Y., Cemek M., Yavuz Y., Birdane Y.O., & Buyukokuroglu M.E. (2007). Beneficial effect of N-acetylcysteine against organophosphate toxicity in mice. *Biol Pharm Bull.* 30(3):490-4.

Zaahkoug SAM, Helal EGE, Abd-Rabo TEI, & Rashed SZA. (2000). Carbamate toxicity and protective effect of vit. A and vit.E on some biochemical aspects of male albino rats. *Egyptian Journal Hospital medicine* 1:60–77.

partie des annexes

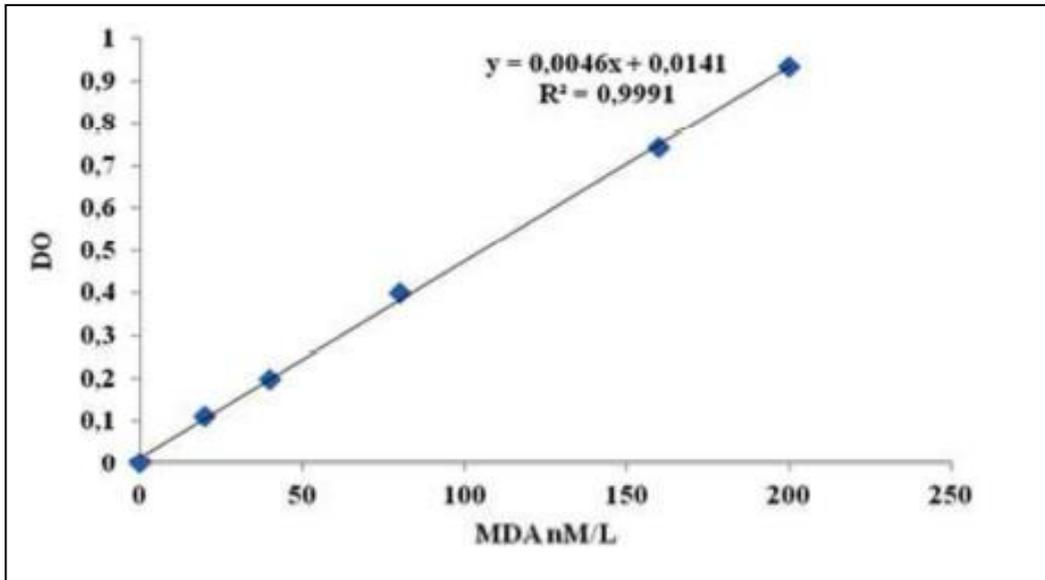


Figure 14: Courbe standard pour le calcul d'MDA

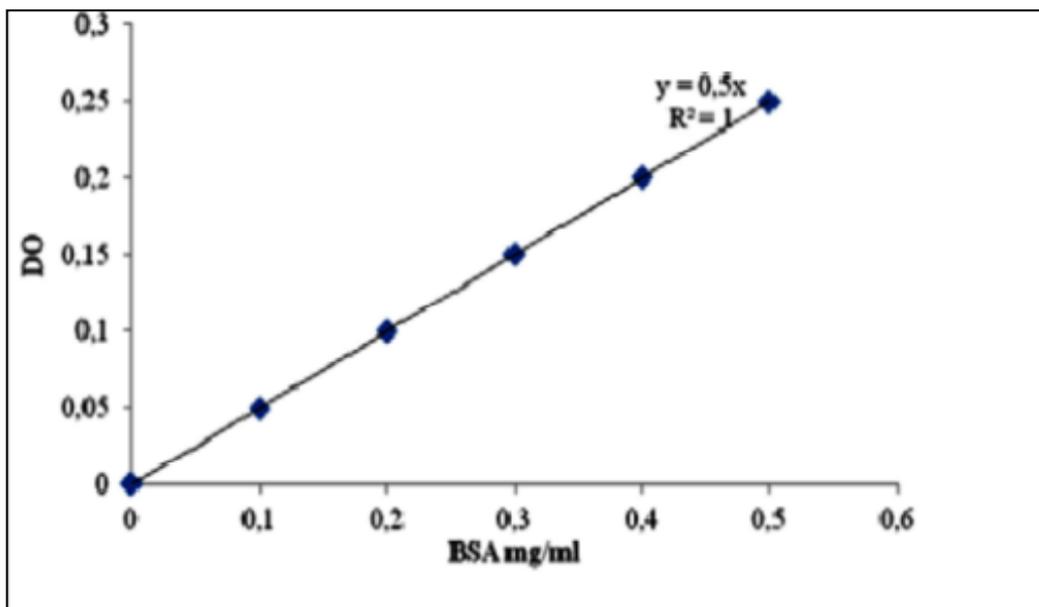


Figure 15: Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovine