



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de TEBESSA



Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Option: Toxicologie

Intitulée :

Neurotoxicité d'une mixture de pesticides (Deltamethrine et Phosalone) sur le lapin (*Oryctolagus cuniculus*), effet opposé de la Quercétine

Présenté et soutenu par :

AOUNI Hamza.

BOUDRAA Amena.

ATTI Wennessa.

Devant le jury :

Mm. BOUSSEKINE. S	MCA	Université de Tébessa	présidente
Mm. BOUADILA. S	MAA	Université de Tébessa	Examinatrice
M. MENACEUR Fouad	MCA	Université de Tébessa	Rapporteur

Date de soutenance : 26/05/ 2018

RESUME

L'utilisation intensive des produits phytosanitaires, en particulier les insecticides, provoque des effets indésirables sur les organismes vivants et leur environnement, L'alimentation est une source importante de l'exposition des consommateurs aux pesticides qui sont associés à l'apparition des diverses pathologies.

L'objectif de ce travail a consisté à évaluer les différents effets neurotoxiques tel que les paramètres globale de la croissance des animaux et le statut redox dans le cerveau suite à l'exposition de façon sub-chronique (15 jours) par voie oral a deux pesticides, un pyréthriinoïde ; la deltaméthrine et un organophosphoré ; la phosalone, sur un modèle animal ; des lapins de race néo-zélandais, et d'un autre côté l'effet préventif d'un polyphénol ; la quercétine contre cette toxicité. Notre expérimentation a été réalisée sur quarante (40) lapins pesant entre 1,7-2,7 kg, ont été divisés en huit groupes de 5 animaux chacun; le premier groupe a servi de témoin, il a reçu de l'eau minérale per os, les autres groupes ont été exposés aux pesticides (phosalone et deltaméthrine) et au quercétine, soit seuls ou sous forme de mixture.

Nos résultats montrent une neurotoxicité par les deux pesticides utilisés (PHO et DM), suite à l'analyse de ces résultats, on observe une diminution considérable de poids corporel des lapines exposés aux pesticides et une augmentation du poids relatif des cerveaux. Les résultats ont montré aussi des changements notables dans les paramètres biochimiques et enzymatique traduit par une diminution de la teneur cytosolique en protéines , et l'augmentation du taux de malondialdéhyde (MDA). Aussi, une diminution de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx) et du taux du glutathion réduit (GSH). Nos résultats ont démontré que la quercétine peut corriger les différents paramètres perturbés et peut réduire la toxicité induite par la deltaméthrine et la phosalone soit individuellement ou sous forme de mixture.

Mots clés : Neurotoxicité, Deltaméthrine, Phosalone, Lapins, Enzymes, Stress Oxydant.

ABSTRACT

The intensive use of plant protection products, in particular insecticides, causes adverse effects on living organisms and their environment. Food is an important source of consumer exposure to pesticides that are associated with the appearance of various pathologies.

The objective of this work was to evaluate the different neurotoxic effects such as the global parameters of animal growth and the redox status in the brain after exposure to sub-chronic (15 days) oral two pesticides, a pyrethroid; deltamethrin and an organophosphorus; phosalone, on an animal model; rabbits of New Zealand breed, and on the other hand the preventive effect of a polyphenol; quercetin against this toxicity. Our experiment was carried out on forty (40) rabbits weighing between 1.7-2.7 kg, were divided into eight groups of 5 animals each; the first group served as a control, they received oral mineral water, the other groups were exposed to pesticides (phosalone and deltamethrin) and quercetin, either alone or as a mixture.

Our results show a neurotoxicity by the two pesticides used (PHO and DM), following the analysis of these results, one observes a considerable reduction of body weight of the rabbits exposed to the pesticides and an increase in the relative weight of the brains. The results also showed notable changes in biochemical and enzymatic parameters reflected by a decrease in cytosolic protein content, and increased malondialdehyde (MDA) levels. Also, decreased activity of glutathione peroxidase (GPx) and reduced glutathione (GSH). Our results demonstrated that quercetin can correct various disturbed parameters and can reduce the toxicity induced by deltamethrin and phosalone either individually or as a mixture.

Key words: Neurotoxicity, Deltamethrin, Phosalone, Rabbits, Enzymes, Oxidative Stress.

ملخص

إن الاستخدام المكثف للمبيدات، وخاصة المبيدات الحشرية، يسبب آثار غير مرغوب فيها للكائنات الحية وبيئتها، تعتبر الأغذية مصدرا هاما لتعرض المستهلك للمبيدات الحشرية التي ترتبط مع ظهور الأمراض المختلفة.

الهدف من هذا العمل تقييم التأثيرات السمية العصبية المختلفة مثل الحالة العامة لنمو الحيوان وحالة الأوكسدة في الدماغ بعد التعرض شبه مزمن (15 يوما) عن طريق الفم لاثنتين من المبيدات الحشرية، البيريثرينويد. *الدلتامثرين* و*الفسفور العضوي*. *فوسالون*، على نموذج حيواني؛ أرانب من فصيلة النيوزلندي، ومن ناحية أخرى التأثير الوقائي للبوليفينول؛ كيرسيتين ضد هذه السمية. تم إجراء تجربتنا على أربعين (40) من الأرانب التي يتراوح وزنها بين 1.7-2.7 كجم حيث تم تقسيمها إلى ثماني مجموعات من 5 حيوانات. المجموعة الأولى كمجموعة شاهدة، وحصلت على المياه المعدنية، المجموعات الأخرى تعرضت للمبيدات (*فوسالون* و*دلتامثرين*) و*كيرسيتين*، إما بمفردها أو كمزيج.

نتائجنا تظهر عدة تأثيرات سمية عصبية للمبيدات الحشريين ومن تحليل هذه النتائج، نلاحظ ان هناك انخفاض كبير في وزن الجسم في الأرانب المعرضة للمبيدات كما نلاحظ زيادة الوزن النسبي للدماغ. كما أظهرت النتائج تغيرات كبيرة في القياسات البيوكيميائية والأنزيمية تتمثل في انخفاض في نسبة البروتين الهولي، وزيادة كمية مؤشرات الإجهاد التأكسدي، أيضا لاحظنا انخفاض نشاط العديد من الإنزيمات المضادة للأوكسدة. وأظهرت النتائج التي توصلنا إليها ان الكيرسيتين قد قام نوعا ما بتصحيح هاته الإختلالات كما وتمكن من التقليل من السمية الناجمة عن *الدلتامثرين* و*الفوسالون* إما بشكل فردي أو على شكل مزيج.

الكلمات الدالة: السمية العصبية، *الدلتامثرين*، *فوسالون*، الأرانب، الإنزيمات، الإجهاد التأكسدي.

REMERCIEMENT

A Madame le Docteur BOUSSEKINE. S

Maitre de conférences à l'université de Tébessa,

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de mémoire, Hommages respectueux

A Madame le Docteur BOUADILA. S

Maitre-assistantE à l'Université de Tébessa,

Qui nous a fait l'honneur d'accepter de participer à notre jury de mémoire, Sincères remerciements.

A Monsieur le Docteur MENACEUR Fouad

De l'Université de Tébessa,

Qui nous a fait l'honneur de nous encadrer et de corriger notre travail.

Pour votre disponibilité, vos conseils et votre passion communicative,

Qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance et de notre respect les plus sincères.

À Monsieur le Professeur DJABRI. B

Maitre de conférences à l'Université de Tébessa,

Pour sa bienveillance, sa patience et son aide dans la réalisation de ce travail.

Remerciements respectueux.

DEDICACE

A la mémoire de ma mère

J'aurais tant aimé que vous soyez présente, Que dieu ait vos ames dans sa sainte miséricorde.

A mon cherpapa

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être, Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.

Puisse Dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

A mes chers frères

WALID. SALAMA. OMAR. SEIF. FAKHRI

Aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour vous, votre joie et votre gaieté me comblent de bonheur.

Puisse dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser à votre tour vos vœux les plus chers.

A mes chers sœurs : ACHOUAK, ASMA, LOBNA, AMANI et toutes mes nièces et neveux.

A MA SŒUR DU CŒUR CHAIMA : JE TE SOUHAITE LA RÉUSSITE DANS TON EXAM « BAC avec MENTION ».

A toutes mes amies adorables : DONIA, OUMAIMA, MAROUA, IMEN, ITEB, ASSIA, BAYA, MONIA, MA BINOME : KHAWLA et toutes mes amies de ***TOXICOLOGIE Appliqué.***

A Mon binôme : Hamza

A toutes les membres de ma famille, petite et grande.

Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.
A toutes les personnes qui ont participé à l'élaboration de ce travail à tous ceux que j'ai omis de citer.

AMENA « SAMAR »

LISTE DES ABRÉVIATIONS

8OHdG	8-hydroxy-2'-deoxyguanosine
AChE	Acétylcholinestérase
ADN	Acide désoxyribonucléique
AGPI	acides gras polyinsaturés
ANOVA	Analyse de variance
ATP	Adenosine triphosphate
BBC	(Bleu Brillant de Coomassie)
BH4	Tétrahydrobioptérine
BHT	Butylhydroxytoluène
BSA	Bovine Sérum Albumine
C	Atome de carbone
Ca²⁺	Ion calcium
CAT	Catalase
CDNB	1-chloro, 2,4-dinitrobenzène
CL50	Concentration létal 50
CN	Radical cyanide
Cu	Cuivre
Cu²⁺	Ion cuivre
Cyt-C oxydé	Cytochrome C oxydé
DA	Dopamine
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
DJA	Dose journalière admissible
DL50	Dose létale 50
DM	Deltaméthrine
DTNB	Acide 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoïque) ou réactif d'Ellman
EDTA	Acide Ethylène-Diamine-Tétra acétique
ERO	Espèces Réactives de l'Oxygène
ERO	Espèces Réactives de l'Oxygène
FAD+	(FAD/FADH₂) Flavine adénine dinucléotide oxydée / réduite
Fe	Fer
Fe³⁺	Ion ferrique ou fer III
FMN	flavine mononucléotide

G	Base de guanine
GABA	Acide gamma-aminobutyrique
GPx	Glutathion peroxydase
GR	Glutathione reductase
GSH	Glutathion réduit
GSSG	Glutathion oxydée
H+	L'ion hydrogène
H2O	Molécule D'eau
H2O2	Peroxyde d'hydrogène
HAPs	Hydrocarbure aromatique polycyclique
HCH	hexachlorocyclohexane
HCL	Chlorure d'hydrogène
HO°	Radical hydroxyle
KD	Knock Down
L-Arg	L-arginine
MDA	Acide Malon-dialdéhyde
Mg	Milligrammen
Mn	Manganèse
mmol	Milimole
MPO	Myéloperoxydase
NA+	Ion Sodium
Na2HPO4	Hydrogéo-phosphate de sodium
NaCl	Chlorure de sodium
NADH	Nicotinamide-adénine dinucléotide réduit
NADPH	Nicotinamide-adénine dinucléotide-phosphate réduit.
nm	Nanomètre
nM	Nanomole
NMDA	N méthyl-D-aspartate
NO	Monoxyde d'azote
NOP	Neurotoxique Organophosphorés
O2	Oxygène
O2⁻	Radical superoxyde (anion superoxyde)
OH	Fonction hydroxyle

OP	Organophosphoré
PA	Maladie de Parkinson
PBS	Phosphate Buffer Solution (Tampon phosphate)
PC	Poids corporel
PCB	Biphényles polychlorés
PEST	Pesticide
PHO	Phosalone
POPs	Polluant organique persistant
PRC	Poids relatif du cerveau
QA-KA	Quisqualate-kainate (récepteurs canaux)
QR	Quercetine
R'	Radical libre
RE	Réticulum endoplasmique
RH	Radical libre oxygéné
ROH	Alcool
ROOH	Hydroperoxyde organique
ROS	Reactive oxygen species
Se	Sélénium
SIDA	Syndrome d'Immunodéficience Acquise
SN	Système Nerveux
SNC	Système Nerveux Central
SOD	Super oxyde-dusmitase
SEPCM	Société d'Engrais et de Produits Chimiques de Mégrine
T	Témoin
TBA	Acide thiobarbiturique
TCA	Acide trichloroacétique
TEPP	Tétra-éthylpyrophosphate
Tris	Trishydroxyméthylaminométhane
VHS	Virus Herpès Simplex
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
Vit E	Vitamine E
XO	Xanthine oxydase
Zn	Zinc

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Exemples des insecticides appartenant aux types I et II des pyréthriinoïdes.....	7
Figure 2. Principales subdivisions de l'encéphale	16
Figure 3. Structure d'un neurone	17
Figure 4. Structures et formes des cellules gliales	18
Figure 5. Mécanisme de la transmission synaptique de l'influx nerveux.....	19
Figure 6. Les cibles principales des pesticides	22
Figure 7. Production des EROs dans la chaîne respiratoire mitochondriale.	25
Figure 8. Chaîne de réactions lors de l'oxydation de l'hypoxanthine en acide urique.....	26
Figure 9. La voie principale de la production de NO à partir de <i>L-Arg</i> dans la cellule endothéliale.	27
Figure 10. Squelette de base des flavonoïdes d'après	35
Figure 11. Structure de la quercétine et leurs caractéristiques..	38
Figure 12. Modes d'action de la quercétine dans la cellule cérébrale.....	39
Figure 13. Schéma récapitulatif du protocole expérimental.	45
Figure 14. Changement cinétique du poids corporel (PC) chez les différents groupes traités durant 15 jours par les pesticides et à la quercétine.	51
Figure 15. Différence entre poids initial et final.....	52
Figure 16. Evaluation du gain de poids corporel (GP) après 15 jours de traitement par les pesticides et la quercétine.....	53
Figure 17. Evolution du poids relatif du cerveau (PRC) chez animaux après 15 jours de traitement par les pesticides et la quercétine.	53
Figure 18. Variation du taux de protéines dans le cerveau après 15 jours de traitement par les pesticides et la quercétine.	54
Figure 19. Variation du taux de GSH dans le cerveau après 15 jours de traitement par les pesticides et la quercétine.....	55
Figure 20. Variation de l'activité de GPx dans le cerveau après 15 jours de traitement par les pesticides et la quercétine.	55
Figure 21. Variation du taux de MDA dans le cerveau après 15 jours de traitement par les pesticides et la quercétine.....	56

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Principales propriétés physico-chimiques de la deltaméthrine	9
Tableau 2. Principales propriétés physico-chimiques de la phosalone	13
Tableau 3. Principales caractéristiques de la quercétine.	37
Tableau 4. Classification du lapin domestique.....	41

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE: ETUDES BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I : PESTICIDES	
1 Généralités sur les pesticides :.....	4
1.1 Définition des pesticides :.....	4
1.2 L'intérêt de l'utilisation des pesticides :.....	4
1.2.1 En agriculture.....	4
1.2.2 En domestiques.....	4
1.2.3 En médecine.....	5
1.3 Classification des pesticides.....	5
1.3.1 Selon leur cible.....	5
1.3.2 Selon leur structure chimique.....	5
1.3.3 Selon leur persistance dans l'environnement.....	6
2 Pyréthrinoïdes.....	6
2.1 Généralités.....	6
2.2 Classification des pyréthrinoïdes.....	6
2.3 Mécanisme d'action des pyréthrinoïdes :.....	8
2.4 Exemple sur les pyréthrinoïdes : La Deltamethrine.....	8
2.4.1 Généralités.....	8
2.4.2 Propriétés.....	8
2.4.3 Utilisations.....	9
2.4.4 Mode d'action.....	9
2.4.5 Toxicité.....	10
3 Organophosphorés :.....	10
3.1 Généralités :.....	10
3.2 Classification des organophosphorés.....	11
3.3 Mécanisme d'action des organophosphorés.....	11
3.4 Exemples sur les organophosphorées : la Phosalone.....	12
3.4.1 Généralités.....	12
3.4.2 Propriétés.....	12
3.4.3 Utilisation.....	13
3.4.4 Mode d'action.....	13

3.4.5 Toxicité.....	14
---------------------	----

CHAPITRE II : NEUROTOXICITE

1 Généralités sur le système nerveux des mammifères	16
1.1 Anatomie de l'encéphale	16
1.2 Anatomie du cerveau	17
1.3 Histologie du cerveau	17
1.3.1 Présentation des cellules.....	17
1.3.1.1 Les neurones	17
1.3.1.2 Les cellules gliales	17
1.4 Physiologie du cerveau	18
1.5 Les neurotransmetteurs	19
2 Généralités sur la neurotoxicité	21
2.1 Les agents causant la neurotoxicité.....	21
2.2 Neurotoxicité des pesticides	22
2.2.1 Neurotoxicité de la deltaméthrine	22
2.2.2 Neurotoxicité de la phosalone :	23

CHAPITRE III : STRESS OXYDANT

1 Généralités sur le stress oxydant.....	25
2 Effets des radicaux libres sur l'organisme	28
2.1 Peroxydation lipidique	28
2.2 Oxydation des protéines.....	28
2.3 Oxydation de l'ADN.....	28
3 Antioxydants	28
3.1 Système antioxydant enzymatique.....	28
3.1.1 Superoxyde dismutase (SOD)	28
3.1.2 Glutathion peroxydase (GPx).....	29
3.1.3 Catalase (CAT).....	29
3.2 Système antioxydant non enzymatique.....	29
3.2.1 Glutathion (GSH)	29
3.2.2 Vitamines	30
3.2.3 Oligoéléments.....	30
3.2.4 Ubiquinones et cytochrome c	30
3.2.5 Polyphénols	31

4	évaluation du stress oxydant	31
5	Biomarqueurs du stress oxydant	32
5.1	Biomarqueurs directs du stress oxydant : ERO	32
5.2	Biomarqueurs indirects du stress oxydant : produits d'oxydation.....	32

CHAPITRE IV : FLAVONOÏDES

1	Généralités	35
2	Structure et Classification	35
3	Intérêts thérapeutiques des flavonoïdes :	36
4	Exemple sur les flavonoïdes : la quercetine.....	36
4.1	Généralité.....	36
4.2	Propriétés	36
4.3	Mode d'action	37
4.4	Toxicité	39

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

1	Materiel.....	41
1.1	Animaux.....	41
1.1.1	Classification du lapin.....	41
1.1.2	Intérêts du lapin pour les recherches scientifique	41
1.1.2.1	Rôle des lapins au laboratoire.....	42
1.1.2.2	Utilisation des lapins en toxicologie.....	42
1.1.2.3	Utilisation des lapins en médecine.....	42
1.2	Produits chimiques.....	43
2	Méthodes.....	43
2.1	Entretien des animaux.....	43
2.2	Mesure de poids	43
2.3	Choix des doses	44
2.4	Répartition et traitement des LAPINS	44
2.5	Sacrifice et recuperation des cerveaux.....	45
2.6	Estimation du poids relatif du cerveau	46
2.7	Préparation des échantillons cytosoliques	46
2.8	Dosage des proteins	46
2.9	Evaluation des paramètres du stress oxydatif	46

2.9.1	Dosage de glutathion (GSH)	46
2.9.2	Dosage du Malondialdéhyde (MDA).....	47
2.9.3	Dosage de glutathion peroxydase (GPx).....	48
2.10	Analyses statistique.....	49
1	Resultats.....	51
1.1	Effets des pesticides et de quercétine sur les paramètres de la croissance des animaux	51
1.1.1	Evolution du poids corporel	51
1.1.2	Gain du poids (GP).....	52
1.1.3	Poids relatif du cerveau (PRc).....	53
1.2	Effets des pesticides et de quercétine sur les paramètres biochimiques et le statut redox dans le cerveau	54
1.2.1	Protéines	54
1.2.2	Glutathion (GSH)	54
1.2.3	Glutathion peroxydase (GPx).....	55
1.2.4	Malondialdéhyde (MDA).....	56
2	Discussion.....	57
2.1	Effets des pesticides et la quercétine sur les paramètres de la croissance globale	57
2.2	Effets des pesticides et la quercétine sur le taux des protéines.....	58
2.3	Effets des pesticides et de quercétine sur le statut redox	58
	CONCLUSSION	61
	REFERENCES	63
	ANNEXES	82

INTRODUCTION

L'utilisation massive des pesticides synthétiques, et en particulier de ceux appartenant à la famille des organochlorés, constitua entre 1945 et 1960, un énorme progrès pour l'agriculture et a permis d'assurer une production alimentaire suffisante pour une population en grande croissance. Ceci, tant et si bien que l'utilisation massive des insecticides est devenue une technique quasiment indispensable à la plupart des pratiques agricoles quel que soit le niveau de développement du pays. Leur utilisation a également contribué à l'amélioration de la santé publique en luttant contre certains insectes vecteurs de maladies (**Bonde *et al.*, 2008**).

Cependant, avec l'utilisation massive des premiers pesticides synthétiques (particulièrement les insecticides organochlorés) sont apparus des signes évidents de toxicité et d'effets néfastes pour l'environnement et pour l'Homme (**Eriksson *et al.*, 1990**). Afin de faire face à ces problèmes, mais également à l'apparition de souches résistantes chez les insectes, les industries chimiques ont développé d'autres familles d'insecticides dont le principe actif est différent, quoiqu'il s'agisse toujours de neurotoxiques. Ces familles sont les carbamates, les pyréthroïdes, les nicoténoïdes et les organophosphorés. Beaucoup de molécules proposées successivement dans chacune des familles se sont révélées également toxiques ou capables de produire des effets néfastes soit pour l'environnement, soit pour l'Homme, ce qui a mené de nouveau à la production d'autres variantes. De cette manière, la production de nouveaux insecticides et l'études de toxicité se sont livrés une course effrénée, dans laquelle les industries ont gardé une bonne avance (**Costa *et al.*, 2004; Colborn, 2006**).

Selon des travaux de recherche ultérieurs, la contamination par les pesticides, même à petites doses, induit notamment avec le temps, des effets néfastes sur la santé des populations, soit par une exposition directe à ces polluants, soit indirectement via les matrices alimentaires (**Mnif *et al.*, 2011; Bonvallot, 2014**), sachant que seule une petite partie des doses des pesticides utilisées atteint la cible (<1%), tandis que la majeure partie (plus de 99%) est répartie dans l'environnement (**Wilson, 2010**).

Malgré l'interdiction ou la restriction d'usage de nombreux pesticides, les deux insecticides que nous avons choisi à étudier, la Phosalone et la Deltaméthrine, qui

appartiennent respectivement aux familles des organophosphorés et des pyréthriinoïdes, restent encore utilisés, pour différents usages agricoles et aquacoles dans certains pays. En Algérie, ces deux types d'insecticides sont largement utilisés avec des précautions moindres tant dans le domaine de l'agriculture qu'à l'usage domestique, ce qui augmente leurs risques toxiques à long terme même s'ils sont exposés à de faibles doses (**Beghoul et al., 2017 ; Chakroun et al., 2016**).

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

Le cerveau est une partie vitale de l'organisme fonctionnant comme système de coordination et de régulation des parties du corps. Tout dommage dû à un stress physique, physiologique et chimique peut avoir un impact sérieux sur l'organisme entier. Le cerveau est aussi considéré comme très vulnérable au stress oxydatif que d'autres organes du corps car il consomme une grande quantité d'oxygène, contient de grandes quantités d'acides gras polyinsaturés (AGPI) et à de faibles niveaux d'enzymes antioxydants.

Le travail que nous avons abordé se situe dans le cadre générale de l'étude de la neurotoxicité provoquée par deux pesticides, la phosalone et la deltaméthrine. L'objectif de notre étude c'est l'évaluation des éventuels effets neurotoxiques sur le cerveau chez les lapins exposés de façon sub-chronique à des doses plus réalistes possibles de la deltaméthrine (DM), de la phosalone (PHO) et de leur mixture et en second lieu à l'intérêt de la prévention de cette toxicité par la quercétine (QR), composé phénolique est reconnu pour son activité antioxydante, capable d'éliminer des radicaux libres susceptibles d'être un facteur étiologique pour les maladies neurodégénératives.

PREMIERE PARTIE

ETUDE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITR I

PESTICIDES

1 GENERALITES SUR LES PESTICIDES :

1.1 DEFINITION DES PESTICIDES :

Le terme de pesticide provient du mot anglais « pest » qui désigne toute espèce végétale ou animale nuisible aux activités humaines. Les pesticides regroupent un nombre important de molécules (**Bonan et Prime, 2001**). "Pesticides" est une appellation générique couvrant toutes les substances (molécules) ou produits (formulations) qui éliminent les organismes nuisibles, qu'ils soient utilisés dans le secteur agricole ou dans d'autres applications (**Ramade, 2002**). Les pesticides, appelés aussi produits phytosanitaires, produits agropharmaceutiques ou bien même produits antiparasitaires (**Periquet, 2004**).

1.2 L'INTERET DE L'UTILISATION DES PESTICIDES :

Le monde agricole a connu une révolution qui l'a progressivement fait passer à une activité industrielle. L'augmentation des rendements s'est faite en parallèle à une utilisation intensive de produits phytosanitaires (**Karami et al., 2011**). Aujourd'hui, on assiste à une explosion de l'utilisation de ces produits souvent désignés avec une nuance péjorative par le public sous le terme de « pesticide » dans plusieurs domaines, agricole domestique, l'industrie et en médecine, comme indiquées en dessous (**Rajapakse et al., 2012**).

1.2.1 EN AGRICULTURE

Les pesticides sont utilisés pour lutter contre les insectes, les champignons et les herbes estimés nuisibles à la production et à la conservation de culture et produit agricoles ainsi que pour le traitement des locaux, ils ont fortement contribué à l'amélioration des rendement agricoles ils ont ainsi permit un énorme progrès dans la maîtrise des ressources alimentaires (**Buckley et al., 2011**).

1.2.2 EN DOMESTIQUES

Souvent utilisée dans des applications comme la protection du bois contre les champignons ou les termites, les insecticide ménagers (les mouches, les moustiques) les produits antiparasitaires (anti-acariens, antipuces ...etc.) (**Truchon et al., 2012**).

1.2.3 EN MEDECINE

Le but principal d'utilisation des pesticides dans le domaine de la médecine est l'amélioration de la santé publique, en particulier en luttant contre les insectes, vecteurs de pathologies contre certaines maladies comme paludisme, typhus et autres épidémies (**Benziane, 2012**).

1.3 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 ; Djefal., 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 du classement pour les pesticides, parmi ces critères nous citons les suivants :

1.3.1 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 hélicidés 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**).

1.3.2 SELON LEUR STRUCTURE CHIMIQUE

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

1.3.3 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, HCB, 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 bio pesticides (**Belhaouchet, 2014**).

2 PYRETHRINOÏDES

2.1 GENERALITES

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

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

2.2 CLASSIFICATION DES PYRETHRINOÏDES

La famille des pyréthriinoïdes renferme deux groupes distincts :

1- Les pyréthriinoïdes naturels (non-synthétiques) sont des insecticides d'origine végétale, Extraits du pyrèthre produit par *Chrysanthemum cinerariaefolium*. Cette dernière est une Plante herbacée, vivace, cultivée pour ses fleurs utilisées pour l'extraction d'une poudre Insecticide contenant le pyrèthre, d'où l'appellation pyréthriinoïdes. Ces composés sont

Instables, se dégradent rapidement et perdent leur pouvoir toxique à la suite d'un contact avec la lumière, l'air ou encore la chaleur.

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

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

Les composés de type II sont plus toxiques que ceux du type I et ce en fonction de la durée et de leur mode d'action (**Schleier et Peterson, 2012**).

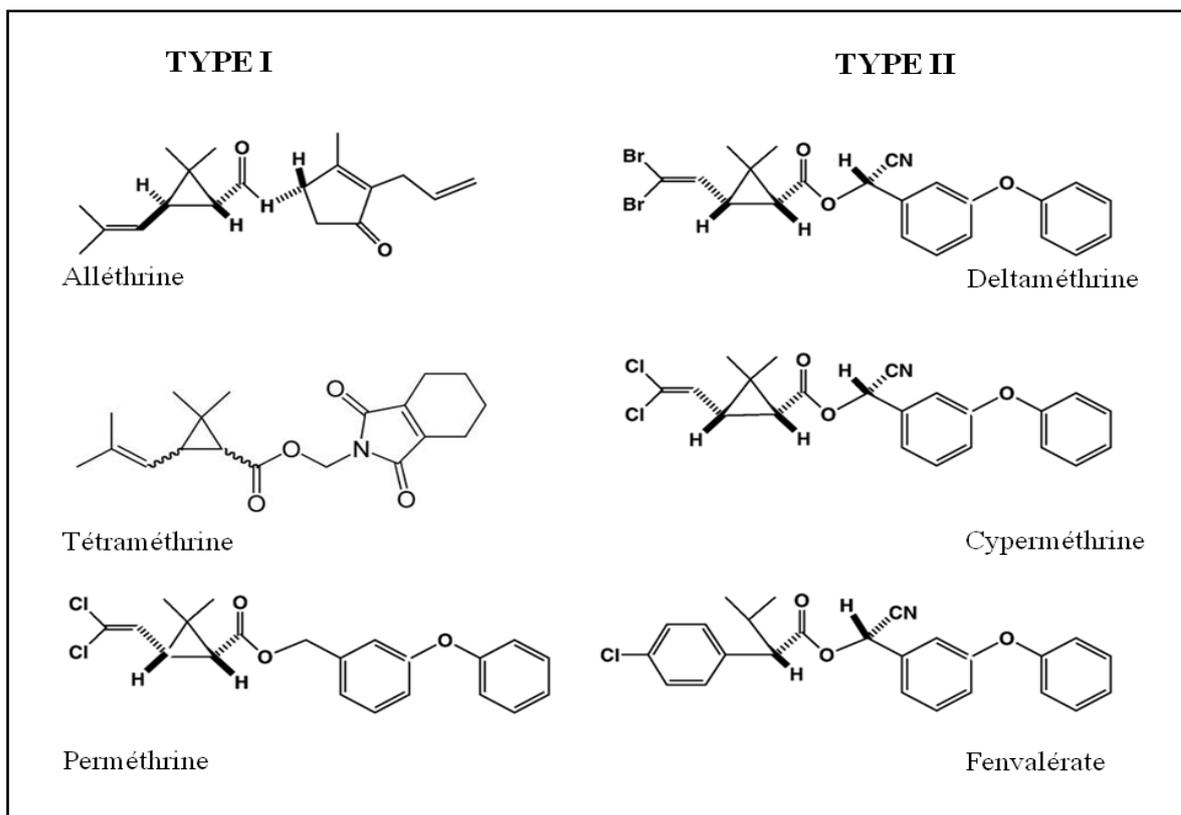


Figure 1. Exemples des insecticides appartenant aux types I et II des pyréthrinoïdes (**Pyabalo Aklesso Kadala.2005**).

2.3 MECANISME D’ACTION DES PYRETHRINOÏDES :

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

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

2.4 EXEMPLE SUR LES PYRETHRINOÏDES : LA DELTAMETHRINE

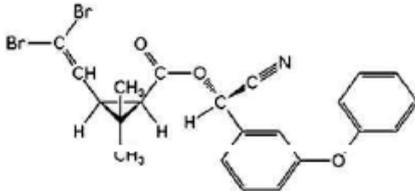
2.4.1 GENERALITES

C’est un Pyréthriinoïdes de synthèse de type II, mis au point en 1974 et est utilisé principalement comme insecticide et répulsif pour les insectes en raison de ses propriétés neurotoxiques. La deltaméthrine est un insecticide non systémique à action rapide par contact et ingestion (Guler *et al.*, 2010 ; Utip *et al.*, 2013 ; Shivanoor et David, 2014).

2.4.2 PROPRIETES

La delthamétrine est caractérisée par les paramètres physicochimiques et toxicologiques résumés dans le tableau 01.

Tableau 1. Principales propriétés physico-chimiques et toxicologiques de la deltaméthrine (INRS, 2007; Toumi, 2013; Shivanoor et Davide, 2014).

Nom chimique	R-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-diméthyl-cyclopropane carboxylate de (S)- α -cyano-3-phénoxybenzyle
Structure chimique	
Formule chimique	C ₂₂ H ₁₉ Br ₂ NO ₃
Masse molaire	505,20 g/mole
Point de fusion	90 °C
Solubilité dans l'eau	≤0.0002 mg/l à 25°C
Etat physique	Cristaux blancs
DL50	130 mg/kg chez le rat
DJA	100 à 150µg/kg/j
Effets toxiques	Médiatement toxique (irritation, inflammation, ...)

2.4.3 UTILISATIONS

La deltaméthrine est utilisée dans de nombreux domaines comme celui de la protection des cultures (vignes, cultures maraîchères, vergers, coton, colza, tabac) ; on l'utilise également dans l'hygiène publique en usage domestique contre les mouches, moustiques et blattes (peintures, papiers peints...). Enfin elle permet la destruction de nombreux vecteurs de grandes endémies telles la dengue, le paludisme, l'onchocercose et bien sûr les trypanosomoses (Merot *et al.*, 1984 ; Djiteye *et al.*, 1998 ; Dagnogo, 1983 ; Van Den Bossche et Duchateau, 1998 ; Bauer *et al.*, 1993 ; Okello-Onen *et al.*, 1994 ; Okiria et Kalunda, 1994 ; Abiola *et al.*, 1990).

2.4.4 MODE D'ACTION

Comme les autres pyréthrinoïdes cet insecticide entraîne un dysfonctionnement des canaux sodium. Les sites d'action concernent aussi bien le système nerveux central que périphérique. Les effets neurotoxiques et neurohormonaux additionnés entraînent

certainement des déséquilibres ioniques susceptibles de modifier les activités des ATPases membranaires qui finissent par conduire à la mort.

Il existe différentes phases d'action des pyréthrinoïdes sur les insectes : tout d'abord il y a une phase d'excitation intense suivie d'une paralysie générale (effet Knock-Down). L'insecte peut par la suite recouvrer ses facultés motrices ou bien mourir selon la dose utilisée (**Herve, 1982**).

2.4.5 TOXICITE

La Deltamethrine (DM) est répertoriée en classe II par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et par l'Agence de Protection de l'Environnement (EPA, USA) et dans la liste noire par la Convention de Stockholm (Green Peace) (**Utip et al., 2013**). Elle est très toxique pour les poissons et les abeilles (**HSDB, 2001**). En solution, dans un solvant non aqueux, la Deltamethrine présente sa plus faible DL50 de 19mg/kg par voie orale chez la souris et d'environ 130 mg/kg/j chez le rat (**IPCS, 1990**). La toxicité de DM par voie cutanée est faible ; la DL50 correspondante est supérieure à 800mg/kg chez le rat et supérieure à 2000 mg/kg chez le lapin (**INRS, 2016**). L'intoxication aiguë se manifeste chez le rat et la souris par les signes suivants : hypersalivation, diarrhée, dyspnée, faiblesse, défaut de coordination motrice, hypotonie, tremblements, mouvements cholériformes, tachycardie, difficultés respiratoires et convulsions cloniques. Les paralysies des muscles respiratoires sont susceptibles de conduire à la mort. La sévérité des symptômes est corrélée à la concentration de DM dans le cerveau (**He et al., 1989 ; INRS, 2016**). La Deltamethrine provoque une salivation excessive, secousses cloniques, mouvements involontaires, convulsions toniques et cloniques. On a noté aussi des altérations neurologiques avec démyélinisation (**Scassellati et al., 1994 ; Toumi, 2013**).

3 ORGANOPHOSPHORES :

3.1 GENERALITES :

Les organophosphorés sont des insecticides synthétiques, commercialisés depuis 1942 avec le TEPP (tétra-éthylpyrophosphate), très toxique et rapidement abandonné, puis le parathion, en 1944. De formule générale (R10,R20)-PO(S)-O(S)-X, ils sont peu à peu remplacés les organochlorés, trop persistants, Ils agissent par contact et par ingestion,

parfois également par inhalation, sur une grande variété d'insectes et de vers. Ils pénètrent facilement dans l'organisme des insectes par leur liposolubilité élevée (**Damien.A et al., 2010**).

3.2 CLASSIFICATION DES ORGANOPHOSPHORES

Les organophosphorés peuvent être classés en trois groupes, selon la nature du groupe X:

- les aliphatiques (formothion, malathion...). Ils sont généralement hautement toxiques et peu stables.
- les aromatiques (parathion,...) Ils sont plus stables que le groupe précédent (meilleure rémanence).
- les hétérocycliques (phosalone,...)

Ils peuvent aussi être classés selon la présence d'atomes de soufre: les organophosphorés (le dichlorvos), les thio-organophosphorés (le diazinon) et les dithio-organophosphorés (le malathion). Les organophosphorés aromatiques et les dérivés soufrés sont les plus persistants, la plupart des composés étant peu rémanents dans l'environnement (ils sont hydrolysés rapidement). Ils ne s'accumulent pas non plus dans les organismes vivants (**Damien. A et al, 2010**)

3.3 MECANISME D'ACTION DES ORGANOPHOSPHORES

Les organophosphorés (OP) sont des toxiques létaux, à action systémique prédominante, dont le mécanisme d'action principal est de bloquer la dégradation de l'acétylcholine au niveau des synapses cholinergiques par inhibition irréversible des cholinestérases. Cliniquement, l'accumulation d'acétylcholine provoque une réponse exagérée des récepteurs cholinergiques, qui peut conduire à des convulsions ou des troubles respiratoires (**Side FR et al, 1992**).

○ a) Activation

Après absorption, de nombreux OP doivent être activés par des oxydases, des hydrolases et des transférases au niveau hépatique avant d'être toxiques pour l'homme, la connaissance de ces mécanismes permettant de déterminer le délai d'apparition des manifestations toxiques (**Hayes w, 1982**).

- b) **Action sur la synapse cholinergique** : inhibition des cholinestérasés

Les OP, très lipophiles, franchissent aisément toutes les barrières biologiques et se fixent de façon covalente aux cholinestérasés, que ce soit les acétylcholinestérasés du système nerveux central, des muscles et des globules rouges ou les pseudocholinestérasés du système nerveux central et plasmatique. Même si une faible quantité franchit la barrière hémato-encéphalique, elle suffit pour inhiber en quelques secondes pratiquement toute l'activité cholinestérasique (**Blanchet G *et al.*, 1991**). Les OP viennent alors occuper en le site de l'enzyme, en s'opposant à l'hydrolyse physiologique de l'acétylcholine en choline et en acide acétique. L'enzyme, ne pouvant plus être hydrolysée, vieillit et devient non fonctionnelle et non réactivable : à ce moment-là, le processus est irréversible. Seule la synthèse de nouvelles cholinestérasés permettra le retour à une activité fonctionnelle normale. Cette difficulté, voire impossibilité de réactivation des cholinestérasés différencie les intoxications par OP de celles par les carbamates au cours desquelles les cholinestérasés sont spontanément et rapidement réactivés. Voilà pourquoi les OP présentent une haute toxicité lors d'accidents où l'exposition a lieu à hautes doses (**Damien. A *et al.*, 2010**).

3.4 EXEMPLES SUR LES ORGANOPHOSPHOREES : LA PHOSALONE

3.4.1 GENERALITES

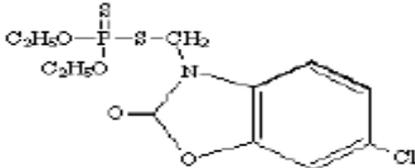
La phosalone est un pesticide organophosphoré couramment utilisé comme insecticide et acaricide à large spectre. Elle a été introduite en 1963 par la société Rhône-Poulenc en tant qu'insecticide non systémique et acaricide (**Thomson W,1992**).

3.4.2 PROPRIETES

Ce composé appartient à la classe des entités chimiques connues sous le nom de benzoxazolones. Ce sont des composés organiques contenant un benzène fusionné à un cycle oxazole (un anneau aliphatique à cinq membres avec trois atomes de carbone, un atome d'oxygène et un atome d'azote) portant un groupe cétone. (**Thomson W,1992**)

Les paramètres physicochimiques sont résumés dans le tableau 02.

Tableau 2. Principales propriétés physico-chimiques de la phosalone (**Montgomery, J.H., 1993**).

Nom chimique	Phosphorodithioate de S-[(6-chloro-2-oxo-3(2H)-benzoxazolyl) méthyle] et de O,O-diéthyle
Structure chimique	
Famille chimique	Organophosphorés
Formule moléculaire	C ₁₂ H ₁₅ ClNO ₄ PS ₂
Poids moléculaire	368
Etat physique	cristaux incolores avec une odeur d'ail
Solubilité dans l'eau	1,2, 2,6 et 3,7 mg / l à 10, 20 et 30 degrés C° respectivement
Point de fusion	45-48°C

3.4.3 UTILISATION

La phosalone fait partie de la famille des insecticides organophosphorés. Il est utilisé comme insecticide et acaricide. Il se présente sous forme de concentré émulsifiable, de poudre mouillable et de poussière (**Montgomery, J. H., 1993**). Il est utilisé sur les cultures de noix, agrumes, fruits à pépins, fruits à noyau, raisins, pommes de terre, artichauts, roses et arborvitae (**U.S. Environmental Protection Agency, 1987**). Il est actif contre l'araignée rouge sur les pommes et les poires. Il contrôle un large éventail de chenilles et de coléoptères sur des cultures d'importance économique ainsi qu'un certain nombre d'hémiptères et d'hyménoptères (**Spencer, 1981**). Son activité insecticide peut durer 12 à 20 jours (**Grandjean et Landrigan, 2006**).

3.4.4 MODE D'ACTION

La plupart des OP (dont la PHO) sont synthétisés sous une forme assez peu toxique, dans laquelle le phosphore est lié à un soufre par une double liaison. La forme active des OP est leur métabolite dit « oxon », forme dans laquelle la double liaison P=S est substituée par une liaison P=O. C'est donc cette forme qui est plus particulièrement capable d'inhiber fortement la famille des cholinestérasés dont l'AChE. En ce qui concerne

le PHO, il exerce cette action sur les cholinestérases, principalement via son métabolite actif, le PHO oxon.

L'interaction entre les formes « oxon » et l'AChE se fait de manière covalente par phosphorylation de la sérine du centre catalytique. Cette liaison entre les OP et l'AChE est irréversible avec la plupart des OP à l'exception des OP diméthyles (**Lotti, 1995**).

L'inhibition de l'enzyme AChE provoque une accumulation d'acétylcholine dans les synapses et une surstimulation des récepteurs muscariniques et nicotiques provoquant un certain nombre de troubles et symptômes décrits plus bas dans les effets toxiques de la phosalone (**Costa, 2006**).

3.4.5 TOXICITE

En général, la biotransformation de la phosalone est similaire à celle d'autres composés phosphorés organiques. Il est un inhibiteur faible du cholinestérase. Son analogue d'oxygène est 2-3 fois plus actif, en particulier dans l'inhibition du cholinestérase sérique (**Pergamon Press, 1977**). Aucun effet clinique n'a été observé et aucun phosalone ou métabolite n'a été retrouvé dans l'urine de quatorze hommes travaillant dans une orangerie commençant 14-17 et 21-23 jours après l'application de la phosalone à raison de 13,5 kg/ha (**Gallo et al.,1991 ; Hayes Jr et Wayland , 1982**).

Chez les mammifères, la toxicité aiguë est modérée. La DL₅₀ de la PHO par voie orale se trouve entre 82 et 205 mg/kg chez les rats males et entre 90 et 170 mg/kg pour les rats femelles. Elle est comprise entre 73 et 205 mg/kg chez la souris et a été établie 2000 mg/kg chez les lapins. Chez les rats, en exposition chronique par voie orale, 2,4 mg/kg/J est répertoriée comme le niveau le plus bas sans effet sur l'activité de l'AChE plasmatique et 7,5 mg/kg/J durant un mois paraît ne pas donner d'effet systémique observable. La toxicité est très forte pour les organismes aquatiques. Par exemple, la CL₅₀ pour la truite arc-en-ciel est de 0.3 à 0.63 mg/l (**Grandjean et Landrigan, 2006**).

CHAPITR II

NEUROTOXICITE

1 GENERALITES SUR LE SYSTEME NERVEUX DES MAMMIFERES

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

Dans cette étude, nous ne nous intéresserons qu'au système nerveux central intracrânien, à savoir l'encéphale et plus précisément le cerveau.

1.1 ANATOMIE DE L'ENCEPHALE

L'encéphale comprend trois parties majeures : l'isthme encéphalique ou tronc cérébral qui prolonge la moelle épinière, le cervelet occupant le compartiment postérieur de la cavité crânienne, et le cerveau, divisé en deux hémisphères. L'encéphale peut également être subdivisé en 5 aires, le télencéphale, le diencephale, le mésencéphale, le métencéphale et le myélocéphale (Führer.L *et al*, 2007) (Fig .02).

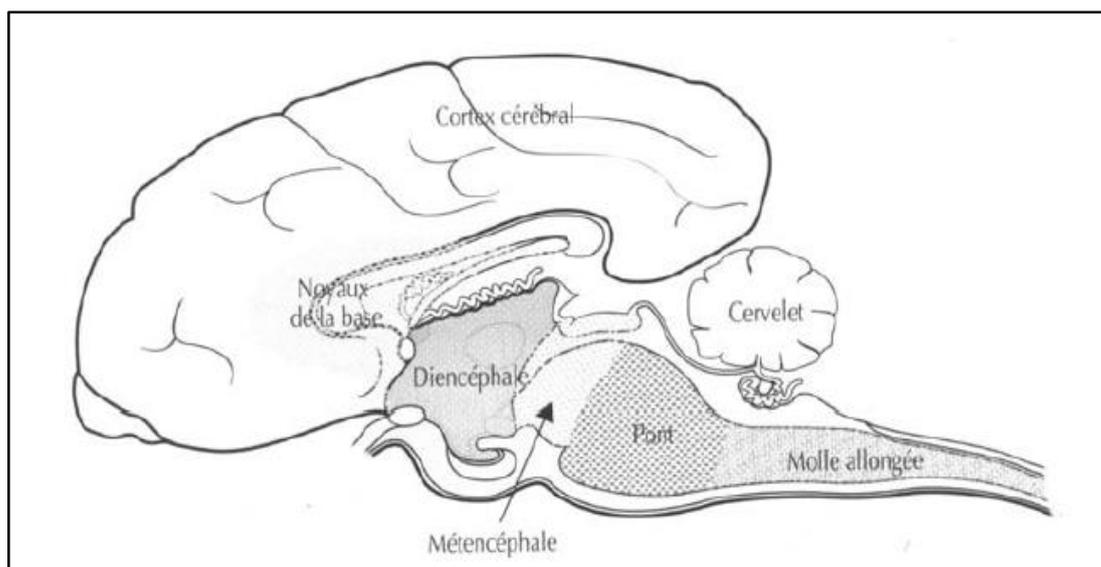


Figure 2. Principales subdivisions de l'encéphale (Führer.L *et al*, 2007).

1.2 ANATOMIE DU CERVEAU

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

1.3 HISTOLOGIE DU CERVEAU

1.3.1 PRESENTATION DES CELLULES

Le parenchyme nerveux comprend des neurones et des cellules de soutien formant la névroglie (gliocytes).

1.3.1.1 LES NEURONES

Ce sont des cellules hautement différenciées et spécialisées dans la réception et la transmission de l'influx nerveux. Elles sont composées du corps cellulaire, autour du corps cellulaire se trouve les dendrites et l'axone (William, 1981; Pascal, 2010), (fig.05).

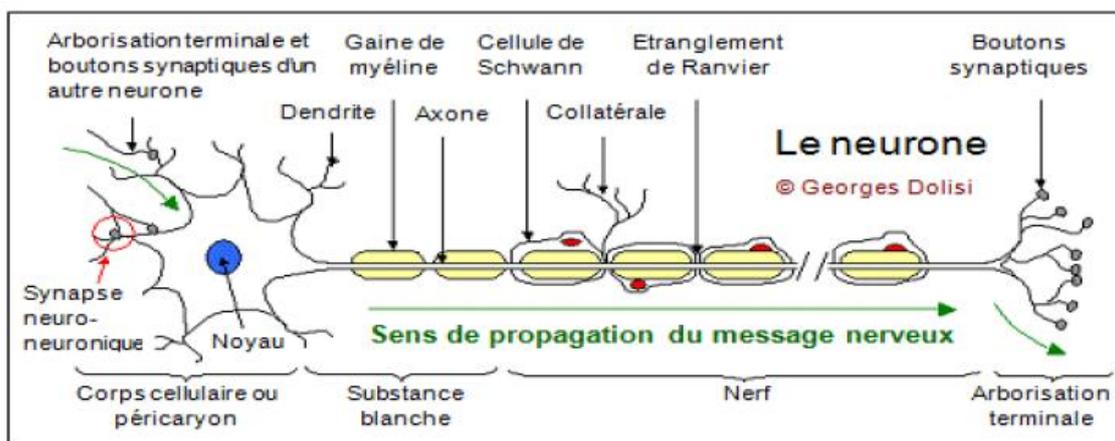


Figure 3. Structure d'un neurone (Jean-François *et al.*, 2005).

1.3.1.2 LES CELLULES GLIALES

On trouve quatre types des cellules gliales dans le SNC, les oligodendrocytes, la microglie, les épendymaires et les astrocytes (William, 1981; Block et Hong, 2005). Elles entourent les neurones et participent au contrôle de l'environnement chimique et électrique en leur fournissant des nutriments et en éliminant leurs déchets (William, 1981). Elles sont

appelées cellules de support neuronales parce qu'elles produisent des facteurs de croissance et réutilisent les neurotransmetteurs (Christensen *et al.*, 2013) ,(fig.04).

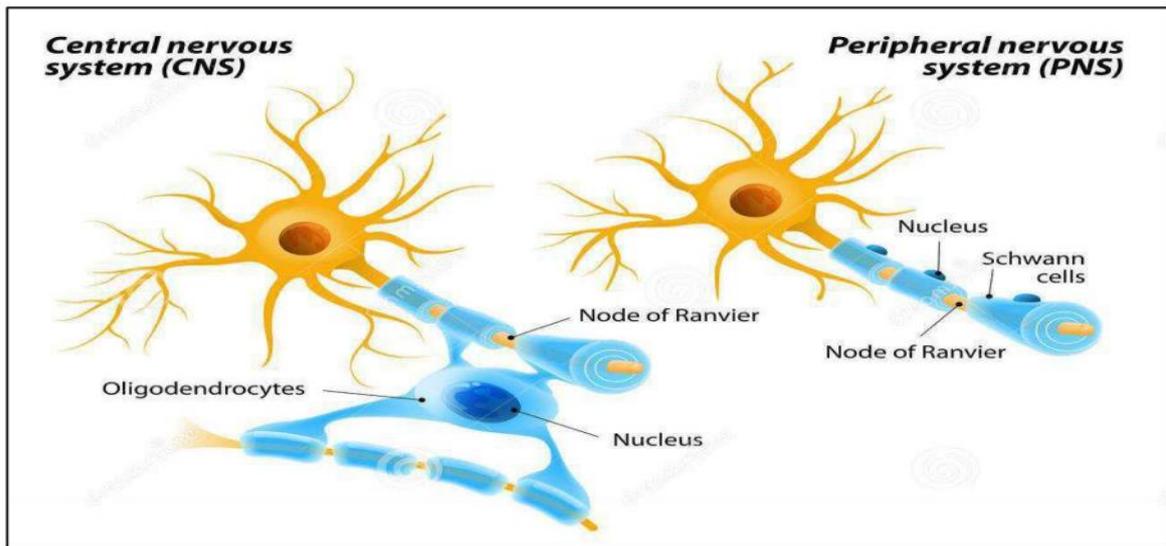


Figure 4. Structures et formes des cellules gliales (Jean-François *et al.*, 2005).

1.4 PHYSIOLOGIE DU CERVEAU

Le système nerveux peut être considéré comme un réseau discontinu car les éléments qui le composent, les neurones, sont distincts les uns des autres. Ils sont connectés entre eux, au niveau des synapses, par les prolongements des dendrites et les ramifications des axones.

Le cerveau possède environ un million de milliard de connexions ce qui assure à chaque neurone une connexion rapide avec tous les autres neurones. Les synapses sont les espaces de vingt micromètres situés entre les dendrites de la cellule réceptrice et les terminaisons axonales de la cellule émettrice. Le transfert de l'influx nerveux d'un neurone à un autre ou bien d'un neurone à une cellule effectrice se fait au niveau de ces synapses. La communication entre les cellules nerveuses à ce niveau s'appelle la transmission synaptique et implique des mécanismes chimiques et électriques. Il existe deux types de synapses : les synapses chimiques qui passent par l'intermédiaire d'un neuromédiateur, une molécule chimique qui exerce son activité en se fixant sur les récepteurs situés sur la cellule réceptrice, et les synapses électriques au niveau desquelles les signaux électriques générés influencent directement le neurone récepteur. Toutefois avant d'être acheminé d'un neurone à l'autre, le message doit parcourir le neurone, cela se fait grâce à des impulsions électriques appelées « potentiel d'action » qui se propagent le long de l'axone à

la manière d'une vibration le long d'une corde. (Arnaud M, 2010 ; British Neuroscience Association, 2003).

1.5 LES NEUROTRANSMETTEURS

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

Les neurotransmetteurs sont des substances chimiques libérées par un neurone au niveau d'une synapse qui modifie de manière spécifique l'activité d'une autre cellule. Ils diffusent vers la région post-synaptique pour activer leurs récepteurs puis sont rapidement éliminés (Guénard, 2001) soit par diffusion en dehors de la fente synaptique, soit dégradés par une enzyme spécifique et réabsorbés par le bouton terminal (Guéguen *et al.*, 2005), (fig.05).

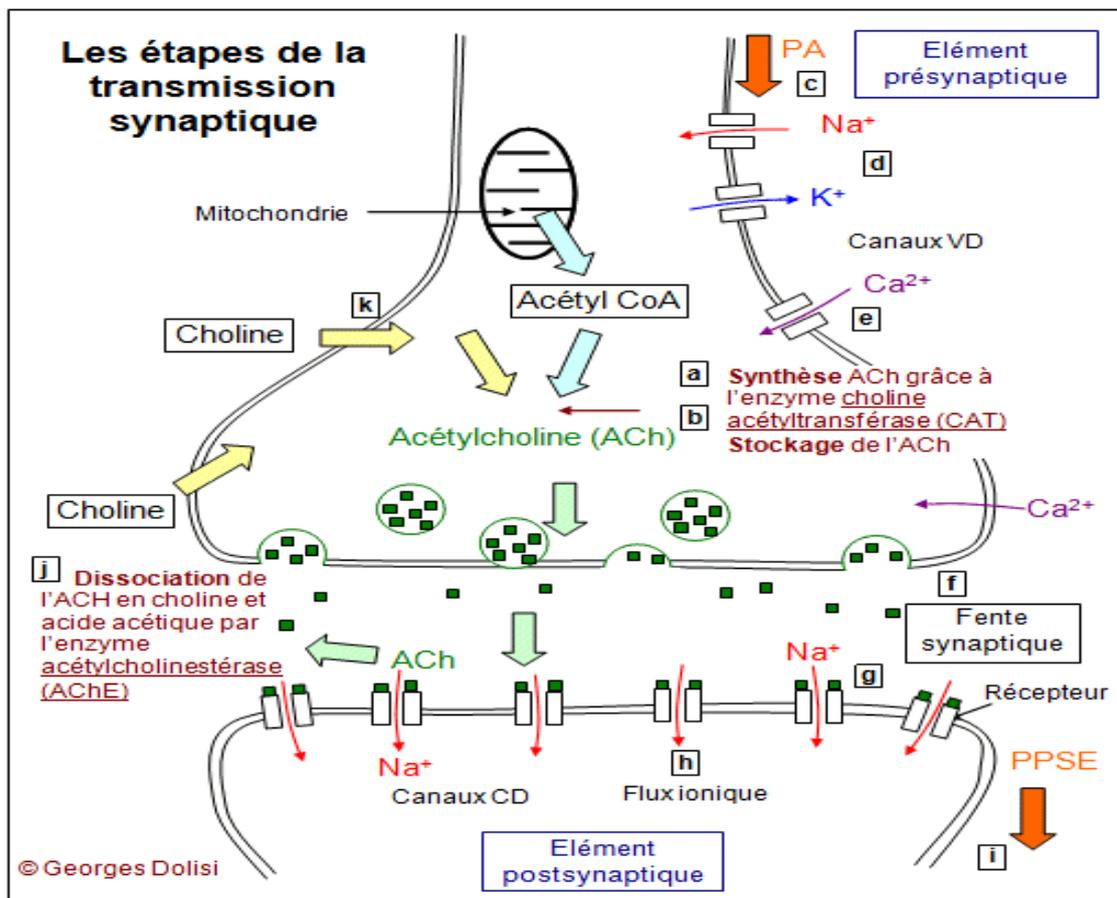


Figure 5. Mécanisme de la transmission synaptique de l'influx nerveux (Chuiko *et al.*, 1997).

- Acétylcholine (Ach)

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

- Adrénaline (Ad)

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

- Dopamine (Da)

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

- GABA

Le GABA ou acide g-aminobutyrique est un neurotransmetteur inhibiteur, dont le récepteur se lie aussi au valium. Le GABA et le valium aident à soulager l'anxiété et diminuent l'angoisse.

Il est le principal neurotransmetteur inhibiteur et il joue un rôle critique dans la régulation de l'activité neuronale (hyperpolarisation membranaire) chez les vertébrés et les invertébrés. (**Buckingham *et al.*, 2005 ; Verkhatsky et Butt, 2007**).

- Sérotonine (5-HT)

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

- Morphine

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

2 GENERALITES SUR LA NEUROTOXICITE

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

2.1 LES AGENTS CAUSANT LA NEUROTOXICITE

Le développement du cerveau peut être perturbé par certains médicaments antiépileptiques, par l'éthanol provenant par exemple des boissons alcoolisées (**Costa *et al.*, 2004**), par la nicotine (**Slotkin, 2004; Slotkin, 2008**) et par les fluorides (contaminant naturel de l'eau) ainsi que par une série de substances industrielles telles que le méthylmercure, l'arsenic, les biphényles polychlorés (PCB), une série de solvants, le manganèse (agent antidétonant présent au départ dans les produits pétroliers et

contaminant ensuite l'eau), le perchlorate d'ammonium (un fuel solide propulseur pour les missiles et roquettes contaminant le sol) (**Grandjean et Landrigan, 2006**).

Le développement du cerveau peut être également altéré par les pesticides parmi lesquels sont bien représentés les insecticides, et en particulier les insecticides neurotoxiques de la famille des OP (**Costa *et al.*, 2004; Colborn, 2006; Grandjean et Landrigan, 2006; Bjorling-Poulsen *et al.*, 2008**).

La liste des produits et substances capables d'altérer le développement du cerveau pourrait s'allonger avec les études les concernant. En effet, nous verrons également que beaucoup de signaux et molécules impliqués dans la formation du SNC (cerveau et moelle épinière) sont également impliqués dans le fonctionnement du SNC adulte. En conséquence, toute substance dont les vertus neurotoxiques ont été démontrées serait susceptible d'interférer avec le développement du système nerveux central (**Grandjean et Landrigan, 2006**).

2.2 NEUROTOXICITE DES PESTICIDES

Les pesticides sont des substances toxiques pour les insectes, les animaux, y compris l'homme (**Lauvverys *et al.*, 2007**). Ils interfèrent principalement les canaux ioniques et les neurotransmetteurs, ainsi que l'*AchE* (*fig.06*) (**Costa, 2006 ; Kanthasamy *et al.*, 2012**).

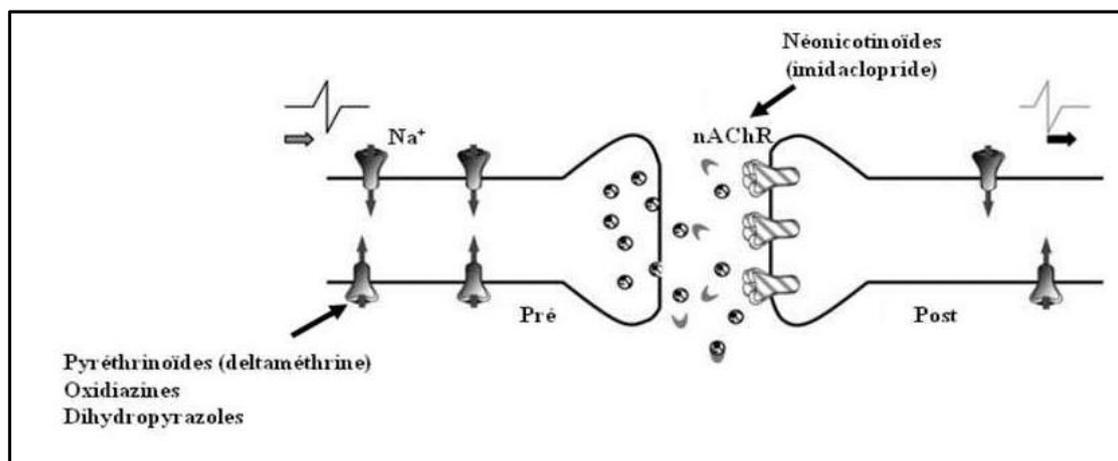


Figure 6. Les cibles principales des pesticides (**Pyabalo.A.K, 2015**).

2.2.1 NEUROTOXICITE DE LA DELTAMETHRINE

L'exposition au deltaméthrine (DM) même à de faibles doses induit l'augmentation des radicaux libres au niveau du réticulum endoplasmique (RE) donnant un stress oxydatif proapoptotique chez les neurones via l'augmentation des produits de la peroxydation

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

2.2.2 NEUROTOXICITE DE LA PHOSALONE :

Il semble que les mécanismes d'action des NOP sur le système nerveux central ne se limitent pas à l'inhibition de l'acétylcholinestérase centrale. En effet, celle-ci n'est corrélée à l'apparition des différents symptômes que de façon très imparfaite, en particulier en ce qui concerne les convulsions et les lésions cérébrales qui les accompagnent (œdème cellulaire, nécrose neuronale). D'autres systèmes de neurotransmission semblent donc impliqués dans la genèse des convulsions entraînées par les NOP. Au niveau du système GABAergique, il existe probablement un déséquilibre entre les systèmes excitateurs (acétylcholine, glutamate) et les systèmes inhibiteurs du GABA, ce qui explique le déclenchement des crises convulsives, la transmission GABAergique elle-même ne semblant pas altérée. Au niveau des acides aminés excitateurs, il semble que la libération excitotoxique de glutamate par le soman au niveau des récepteurs canaux de type quisqualate-kainate (QA-KA) et Nméthyl-D-aspartate (NMDA) soit la cause du développement et surtout du maintien des crises généralisées, ainsi que de l'apparition des lésions cérébrales postconvulsives, par analogie aux lésions d'ischémie ou d'anoxie cérébrale. L'efficacité anticonvulsivante dans l'intoxication aux NOP de substances inhibitrices compétitives du récepteur canal NMDA, comme la phencyclidine, semble confirmer cette hypothèse et ouvre la voie à de nouvelles modalités thérapeutiques (**Blanchet.G,et al.,1991**).

CHAPITR III

STRESS OXYDANT

1 GENERALITES SUR LE STRESS OXYDANT

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre entre la production et l'élimination des radicaux libres (Lü *et al.*, 2010 ; Uno *et al.*, 2010), ces derniers sont des molécules ou des atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe (Gardès-Albert *et al.*, 2006), formés par la perte ou le gain d'électrons à partir d'un composé non radicalaire (Berger, 2006; Fontaine, 2007). Les radicaux libres sont souvent des molécules possédant un électron non apparié à son orbite externe ce qu'il le rend instable, donc il va augmenter son pouvoir oxydant et tentera de prendre un électron des substrats biologiques environnants. Les ROS possèdent deux sources de production, exogène comme les produits de radiation, les médicaments, les polluants d'air, les pesticides et les solvants organiques (Vergely et Rochette, 2005 ; Flora *et al.*, 2008), et les sources endogènes notamment résident dans la mitochondrie, via sa chaîne respiratoire (Favier, 2003). En effet, environ 2 à 5 % de l'oxygène font l'objet d'une réduction monovalente suite à une fuite des électrons dans la matrice mitochondriale au cours de leurs transfert du complexe I au cycle des quinones (Balaban *et al.*, 2005; Vergely et Rochette, 2005). Cette fuite est plus importante dans le cerveau à cause de ses demandes énergétiques élevées (20% de l'O₂ consommé) (Halliwell, 2006). En effet, pendant la réduction de l'oxygène par les cytochromes ils se forment les ROS comme l'O₂[•], H₂O₂ et HO[•] sous l'effet des complexes I et III considérés comme générateurs potentiels de ces radicaux libres (fig.07).

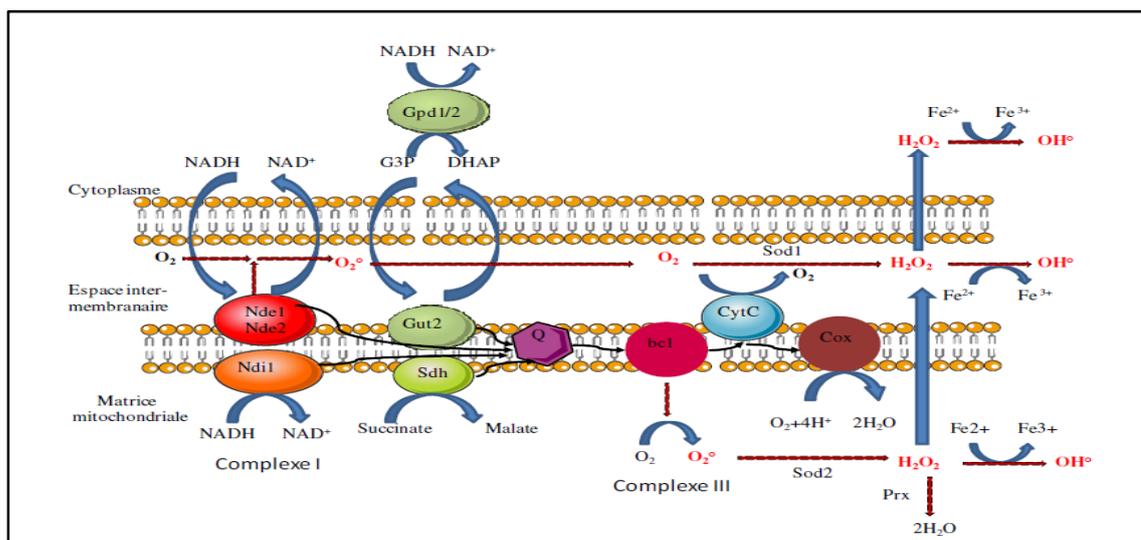
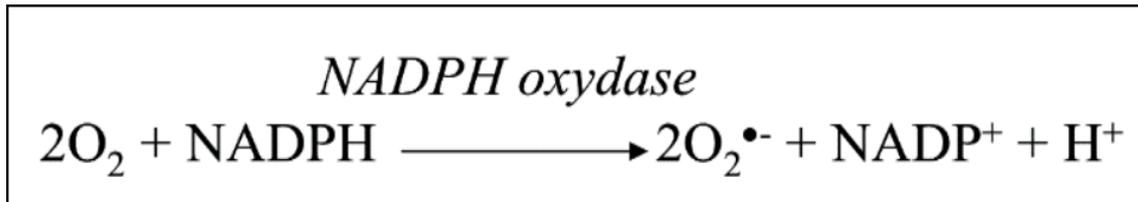


Figure 7. Production des EROs dans la chaîne respiratoire mitochondriale (Herrero *et al.*, 2008).

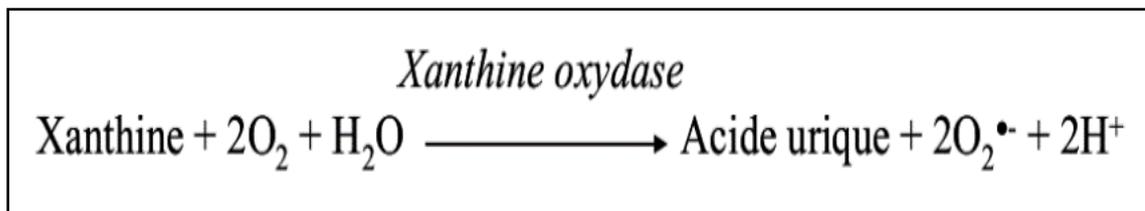
Par ailleurs plusieurs systèmes enzymatiques sont entraînés dans la production des ROS, entre autres la *NADPH* oxydase, xanthine oxydase, *NO* synthase, Myéloperoxydase.

- NADPH oxydase présente notamment dans les cellules phagocytaires, et est susceptible de produire de l'anion superoxyde lors de la phagocytose, en catalysant la réduction mono électrique du dioxygène en utilisant le NADPH ou le NADH comme donneur d'électrons selon la réaction suivante (**Maghzal *et al.*, 2012**).



- Xanthine oxydase (XO) catalyse la dégradation de l'hypoxanthine en acide urique en condition de forte demande d'*ATP* et de déficit en oxygène. Mais elle peut également catalyser l'oxydation de la xanthine en acide urique, notamment lors d'ischémie reperfusion ou d'hypoxie.

Dans cette réaction, l'oxygène moléculaire agit comme un accepteur d'électron produisant ainsi des radicaux superoxydes selon la réaction suivante (**Barouki, 2006 ; Fontaine, 2007**) :



La XO possède un complexe de cofacteur d'oxydoréduction FAD ; Fe/S et MO. Le FAD peut être réduit soit en FADH₂ soit partiellement en FADH. Ces deux derniers subissent encore une fois une ré-oxydation par l'O₂ selon l'illustration schématique suivante (fig.08).

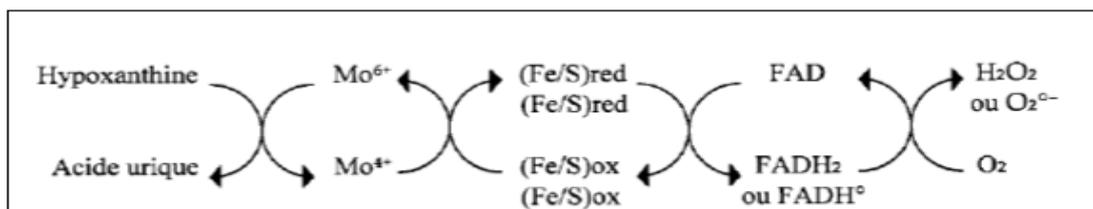


Figure 8. Chaîne de réactions lors de l'oxydation de l'hypoxanthine en acide urique (**Barouki, 2006**).

- NO synthase est présente dans la cellule nerveuse et plus abondante chez la cellule phagocytaire et endothéliale. Sa structure est formée de deux sous unités (*fig.09*). La première sous unité représente le domaine réductase qui se trouve à l'extrémité C-terminale, et la deuxième sous unité représente le domaine oxydase qui se trouve à l'extrémité N-terminale. Le domaine réductase possédant 2 flavines FMN et FAD et un autre site pour la fixation de NADPH qui est le générateur d'électron, et un domaine oxydase possédant un hème et un coenzyme particulier le *BH4* et un autre site pour la L-arginine (**Vamecq et al., 2004**).

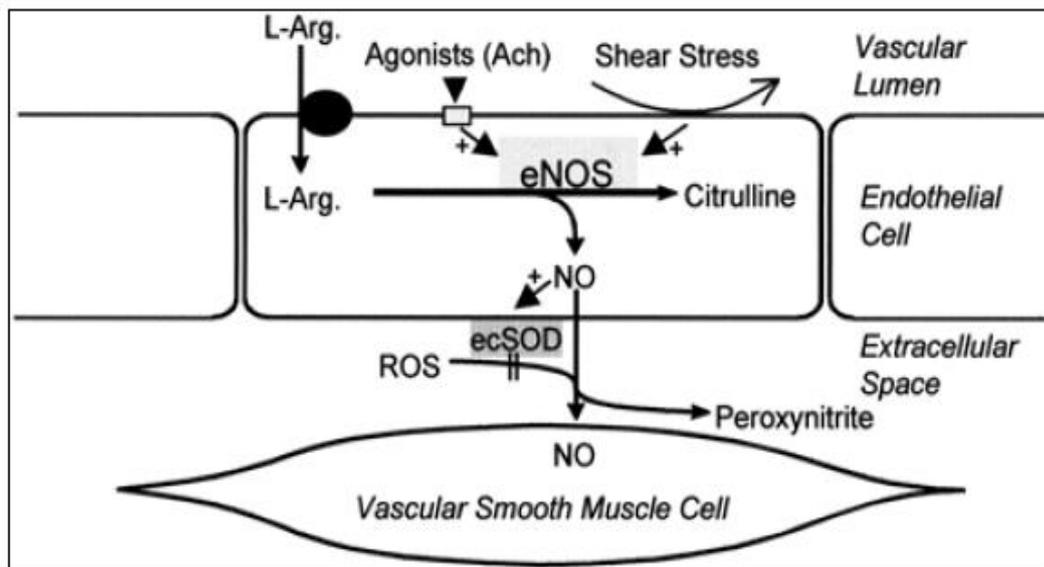
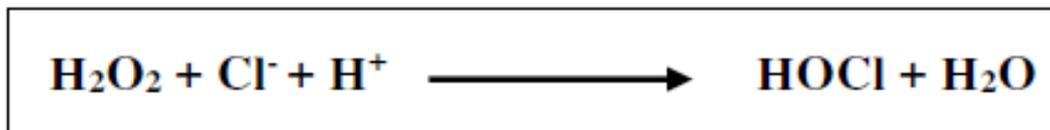


Figure 9. La voie principale de la production de NO à partir de *L-Arg* dans la cellule endothéliale (**Walther, 2004**).

Les deux domaines sont reliés par un pont protéique qui fixe une molécule de calmoduline qui est indispensable aux fonctionnements de complexe.

- Myéloperoxydase (MPO) de son côté catalyse la réaction suivante :



En utilisant le peroxyde d'hydrogène comme substrat oxydant, la myéloperoxydase sous forme pro-MPO et MPO mature exerce une activité de peroxydase et une activité de chloration (**Bossy-Wetzel et al., 1998 ; Barouki, 2006**).

2 EFFETS DES RADICAUX LIBRES SUR L'ORGANISME

2.1 PEROXYDATION LIPIDIQUE

Les acides gras polyinsaturés comme les acides linoléiques ou arachidoniques sont les cibles privilégiées des radicaux libres oxygénés, Ceci conduit à une réaction en chaîne de peroxydation lipidique, qui modifie la fluidité et la perméabilité de la membrane (**Martfnez-Cayuela, 1995**). L'auto-oxydation de molécules telles que la dopamine, l'adrénaline, les flavines et les hydroquinones est une importante source de ROS (**Freeman et Crapo, 1981**). Le produit direct de ces auto-oxydations est souvent l'O₂•⁻. Ainsi, l'auto-oxydation de la dopamine est en partie impliquée dans le processus apoptotique lors de pathologies neurodégénératives, notamment lors de la maladie de PA (**Thannickal et Fanburg, 2000**).

2.2 OXYDATION DES PROTEINES

Les radicaux libres oxygénés induits des modifications dans les structures primaires, secondaires et tertiaires des protéines par la formation des dérivés protéiques carbonylés via plusieurs mécanismes incluant la fragmentation et l'oxydation des acides aminés (**Aurousseau, 2004 ; Baudin, 2006**).

2.3 OXYDATION DE L'ADN

Les ROS peuvent réagir avec la base de guanine (G) de l'ADN, pour la transformer en 8-hydroxy-2'déoxyguanosine (8-OH2DG) qui est capable d'induire des mutations spécifiques dans l'ADN pouvant conduire au développement du cancer (**Collins et al., 1997**).

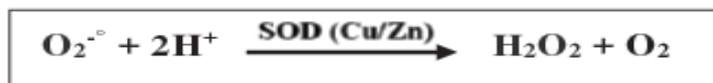
3 ANTIOXYDANTS

3.1 SYSTEME ANTIOXYDANT ENZYMATIQUE

3.1.1 SUPEROXYDE DISMUTASE (SOD)

C'est la première ligne de défense enzymatique, catalyse la conversion de l'anion superoxyde (O₂⁻) produit par la chaîne respiratoire mitochondrial en peroxyde dihydrogène (H₂O₂), Chez les mammifères en trouve la SOD cytoplasmique (Cu-Zn-SOD), la SOD mitochondrial (Mn-SOD) (**Badary et al., 2003**).

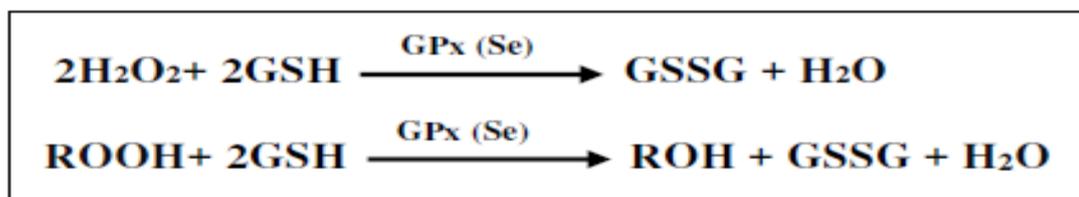
La SOD est retrouvée dans toutes les régions du cerveau. L'augmentation intense de son activité a été associée à des événements maniaques et dépressifs (**Andreazza et al., 2007**).



3.1.2 GLUTATHION PEROXYDASE (GPX)

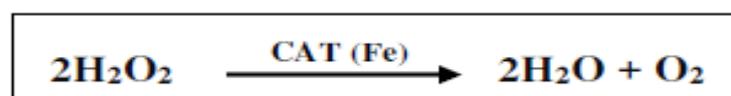
C'est la deuxième ligne de défense enzymatique, empêche la formation des radicaux libres, chez les mammifères. C'est une enzyme à sélénium présente dans le cytosol et la mitochondrie.

Elle peut réduire d'une part l' H₂O₂ en H₂O et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcool (ROH) (**Favier, 2003 ; Fontaine, 2007**).



3.1.3 CATALASE (CAT)

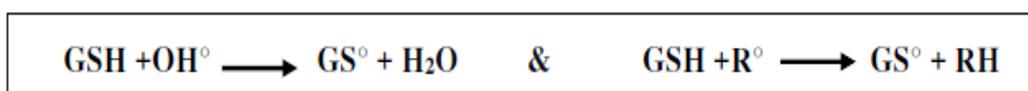
La CAT est présente principalement dans les peroxysomes, lysosomes et les mitochondries. Neutralise le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et oxygène moléculaire. La CAT et la GPx ayant des niveaux faibles dans le cerveau par rapport au niveau de SOD, c'est pourquoi un effort oxydant créé par un taux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



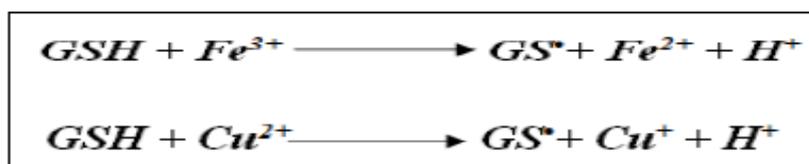
3.2 SYSTEME ANTIOXYDANT NON ENZYMATIQUE

3.2.1 GLUTATHION (GSH)

Le glutathion réduit est un tripeptide caractérisé par la présence d'un groupement sulfhydryle, ce dernier est responsable de la réduction des radicaux libres (**Gardès-Albert, et al., 2003**), selon la réaction suivante :

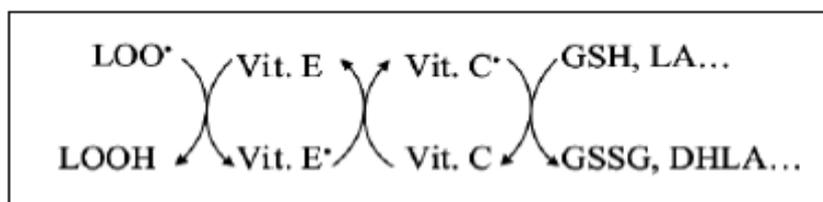


Le glutathion peut également réagir avec les ions Fe^{3+} et Cu^{2+} et ainsi limiter leur participation à la génération des radicaux libres par la réaction de Fenton :



3.2.2 VITAMINES

Chez l'homme le α -tocophérol est la forme la plus active de la vitamine E, sa fonction principale est de protéger contre la peroxydation lipidique. Dans le système nerveux des mammifères, la vitamine E joue un rôle important et son insuffisance peut causer des maladies neurologiques (Atessahin *et al.*, 2005). C'est une vitamine hydrosoluble importante et puissante à des concentrations très élevées dans le cerveau particulièrement dans les compartiments vésiculaires des neurotransmetteurs mono-aminergiques (Lee *et al.*, 2004). Les réactions d'élimination des radicaux lipidiques par les vitamines comme suivant :



3.2.3 OLIGOELEMENTS

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

3.2.4 UBIQUINONES ET CYTOCHROME C

Il a été décrit précédemment que les ubiquinones, sous leur forme semi-radicalaire, jouaient un rôle fondamental dans la production de ROS. Inversement, il a pu être défini que la forme "ubiquinol" agissait comme antioxydant. L'ubiquinol protège les membranes

de la peroxydation lipidique par une diminution de la formation et de la propagation de radicaux peroxy. L'ubiquinone est également impliquée dans la régénération de la vitamine E ce qui amplifie son rôle protecteur contre les ROS (**Packer *et al.*, 1997**). Le cytochrome c présent dans l'espace inter-membranaire a un rôle de détoxification en captant l'électron libre d'O₂⁻ produit au niveau de la chaîne respiratoire. Ainsi réduit, il cède cet électron au complexe IV formant du Cyt-c oxydé et de l'H₂O (**Garait, 2006**).

3.2.5 POLYPHENOLS

Les polyphénols sont des composés issus de végétaux, dont la principale caractéristique structurale commune est la présence d'une ou de plusieurs fonctions hydroxyles (OH) liées à un noyau aromatique, formant ainsi des groupes benzéniques (**Bors *et al.*, 2001 ; Turner *et al.*, 2016**). Ils sont produits par les plantes où ils jouent un rôle dans les mécanismes de défense contre les pathogènes ou les radiations. Ces molécules sont également des pigments qui donnent leurs couleurs aux plantes. Dans notre alimentation, les polyphénols sont présents dans les fruits et les légumes, mais aussi dans le vin, le thé ou le café (**Toumi, 2016**). L'apport alimentaire de ces composés aurait des effets bénéfiques dans la prévention de pathologies diverses, telles que les maladies cardiovasculaires, neuro-dégénératives, l'ostéoporose ou le cancer. L'activité biologique des polyphénols est principalement attribuée à leurs propriétés antioxydantes par leurs structures chimiques et la présence de groupements hydroxyles réactifs (**Godoy *et al.*, 2016**). En plus de leurs actions préventives, les polyphénols ont également un potentiel thérapeutique intéressant. A des fortes concentrations, ils sont capables d'induire l'apoptose de cellules cancéreuses, mais de telles concentrations sont peu compatibles avec une application clinique (**Liu *et al.*, 2006 ; Dong *et al.*, 2014 ; Bouhaddouda, 2016**).

4 EVALUATION DU STRESS OXYDANT

Le stress oxydant étant impliqué dans de nombreuses pathologies, son évaluation est indiscutablement intéressante. Pouvoir caractériser le stress oxydant permet de pouvoir suivre le statut oxydant d'un Homme, d'un cheval ou d'un chien sportif par exemple, ou de détecter précocement un état oxydatif anormal lors de consultations de médecine préventive.

Bien que l'évaluation du stress oxydant apparaisse comme une nécessité, elle demeure compliquée comme nous l'explique. En effet, les méthodes utilisées sont peu

standardisées et les techniques employées sont très diverses. De plus, les espèces radicalaires sont fugaces et instables ce qui les rend difficiles à isoler et doser. Enfin, leur présence est souvent restreinte à un tissu en particulier voire un petit nombre de cellules dans un tissu sain rendant leur dosage ardu (**Favier, 2003**).

Il faut donc envisager de doser des molécules biologiquement stables produites par l'action des espèces radicalaires. Le marqueur idéal réunirait les conditions suivantes : il serait détectable même à faibles concentrations, posséderait une structure chimique qui lui est propre, aurait une demi-vie longue et sa production serait augmentée (ou diminuée) exclusivement en cas de stress oxydant. Malheureusement, aucun des marqueurs mis en évidence jusqu'à ce jour ne présente ces capacités (**Powers et al., 2010**).

5 BIOMARQUEURS DU STRESS OXYDANT

5.1 BIOMARQUEURS DIRECTS DU STRESS OXYDANT : ERO

Doser directement les ERO produits par le stress oxydant permet d'avoir une idée précise de l'intensité de ce dernier. (**Lenzi, 2011**), la principale méthode utilisée est la méthode de résonance paramagnétique électronique qui détecte les électrons non appariés au sein d'une molécule. Son principe est complexe mais globalement, il s'agit d'une technique qui permet l'obtention de spectres d'absorptions caractéristiques pour chaque radical considéré. Mais les radicaux libres étant des espèces peu stables, réactives et à durée de vie réduite, ils restent difficilement identifiables même avec cette technique. On a alors recours « au spin trapping » qui permet de piéger les radicaux libres pour les transformer en radicaux plus stables (**Tissier, 2011**).

5.2 BIOMARQUEURS INDIRECTS DU STRESS OXYDANT : PRODUITS D'OXYDATION

Une autre façon d'évaluer le stress oxydant est de mesurer la production des radicaux libres (et ainsi d'avoir une idée du statut pro-oxydant) par le dosage de marqueurs biologiquement stables, produits par l'action des espèces radicalaires. Lorsqu'ils sont présents en quantité plus importante que les quantités physiologiques dans la circulation ou au sein d'un tissu, ils sont alors les témoins d'un stress oxydant se produisant en amont. Ces marqueurs peuvent être spécifiques des cibles visées par les radicaux libres (par exemple la 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine ou 8OHdG est spécifique des lésions provoquées sur l'ADN et le malondialdéhyde est spécifique de la peroxydation

lipidique, ainsi que la mesure du rapport GSH/GSSG permet d'avoir une idée du statut redox de la cellule et donc considérée comme marqueur de l'oxydation des protéines)
(**Magali M, 2013**).

CHAPITRE IV

FLAVONOÏDES

1 GENERALITES

L'appellation « flavonoïdes » rassemble une très large gamme de composés polyphénoliques formés par un squelette de base à 15 atomes de carbones. Ces composés représentent le groupe de composés phénoliques le plus diversifié : plus de 4000 flavonoïdes ont déjà été identifiés (**Harborne, 1989 ; Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

Le terme « flavonoïde » est dû à leur couleur jaune (= *flavus* en latin) qu'ils engendrent. D'ailleurs, leurs fonctions principales chez les végétaux semblent être attribuées à leur coloration ; au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bétalaines (**Wilson, 1987**). Les flavonoïdes sont présents dans différentes parties des végétaux supérieurs selon le type de l'espèce : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines, bois...etc. Aussi, ils varient quantitativement et qualitativement selon le stade de développement du végétal (**Fritch et Griesbach, 1975**). Certains sont plus spécifiques de certains tissus. Exemple : les chalcones se trouvent plus fréquemment dans les pétales de fleurs.

2 STRUCTURE ET CLASSIFICATION

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base de quinze atomes de carbones constitué de deux unités aromatiques en C6 (A et B) relié par une chaîne en C3 (Fig.10) (**Bruneton, 1993**). De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques et anticancéreuses (**Meddleton et Kardasnam, 1993**).

La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques: flavonols, flavones, flavanes, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (**Medic et al., 2004**).

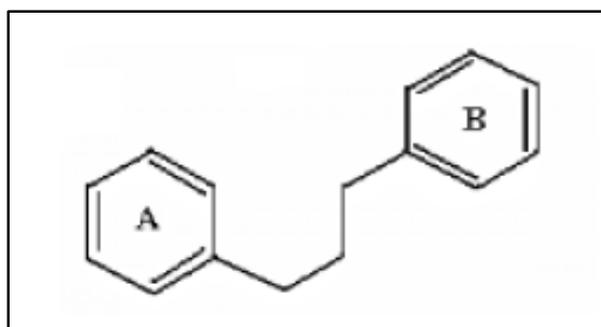


Figure 10. Squelette de base des flavonoïdes d'après (**Dean, 1963**).

3 INTERETS THERAPEUTIQUES DES FLAVONOÏDES :

Les intérêts thérapeutiques des flavonoïdes ont maintes fois été démontrés. Pour citer quelques exemples, nous pouvons dire que : Des expériences menées sur des souris ont montré que la quercétine avaient une activité anti-diarrhéique très importante. Le mécanisme de ces composés consistait à augmenter l'absorption des électrolytes et de l'eau par la muqueuse intestinale (**Galvez et al. 1993 a ; Galvez et al. 1993 b**). Aussi d'autres flavonoïdes, comme l'apigénine, ont été décrits comme des composés bactéricides et bactériostatiques très efficaces (**Basile et al., 1999 ; Cushnie et al., 2003 ; Martini et al., 2004**). De même les flavonoïdes ont déjà été utilisés pour le traitement des cataractes d'origine diabétique du fait qu'ils inhibent l'aldose réductase (**Goodarzi et al., 2006 ; Ouali et al., 2007**).

Les flavonoïdes sont en effet connus pour être des agents protecteurs contre la dégénérescence des neurones (**Chen et al., 2008**).

4 EXEMPLE SUR LES FLAVONOÏDES : LA QUERCETINE

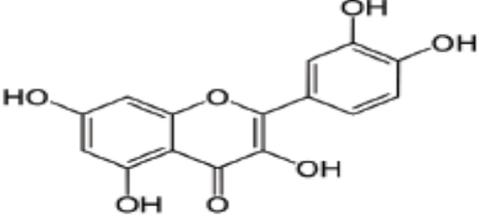
4.1 GENERALITE

La quercétine est un flavonoïde alimentaire important présent dans plusieurs fruits et légumes (**Sashindran, 2015**). Elle est connue pour être une molécule anti-inflammatoire, anticancéreuse, antioxydante et neuro-protecteur contre les dommages de stress oxydatif par l'élimination des actions délétères des radicaux libres auprès de structures cellulaires dont l'ADN et les membranes phospholipidiques et par leur capacité à moduler intracellulaire des signaux favorisant la survie cellulaire. On trouve la quercétine (QR) dans la catégorie des flavonols (**Leclerc, 2012 ; Godoy et al., 2016 ; Turner et al., 2016**).

4.2 PROPRIETES

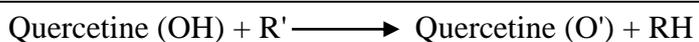
Le tableau 03 présente les principales caractéristiques physico-chimiques et biologiques de la quercétine.

Tableau 3. Principales caractéristiques de la quercétine (Leclerc, 2012 ; Godoy *et al.*, 2016).

Nom et Formule chimique	3,3',4',5,7-pentahydroxy-2-phénylchromén-4-one (C ₁₅ H ₁₀ O ₇)
Structure	
Propriétés Physicochimiques	Poudre blanche peu hydrosoluble (3 à 4 g/L selon pH) et non volatile (tension de vapeur < 1 μPa à 25°C)
Classement réglementaire	T : Directive 67/548/EEC
Persistance d'action	Demi-vie sur le sol comprise entre 4 a 6 jours. Délai d'emploi avant récolte selon le type de culture
Teneurs max en résidus dans et sur les denrées	0,03 (Thé noir) à 1800 (Câpre) mg/kg selon le type de culture
DL50	161 mg/kg/j (oral chez les rats)
Organes cibles	SNC : ataxie et trémulations. Foie : hypertrophie lobulaire.
Génotoxicité	Résultats équivoques sur tests in vitro, négatifs sur tests in vivo
Reprotoxicité	Pas d'effet tératogène ni fœtotoxique (rat, lapin)

4.3 MODE D'ACTION

La quercétine peut d'abord piéger directement un radical libre et réagir avec lui pour le stabiliser, selon l'équation suivante :



Où le R' est le radical libre et le RH est le radical libre oxygéné. Ici, c'est le groupement hydroxyle (OH) de la quercétine qui réagit avec le radical libre (O°). Il en résulte une oxydation de la quercétine par le radical libre qui lui devient inactif (Nijveldt *et al.*, 2001). Ce sont les deux hydroxyles du groupement catéchol (fig.18) ainsi que accéder au paramètre de l'instauration en 2,3, conjugué à la fonction 4-oxo, du noyaux C qui sont responsables de la capacité antioxydante de ce flavonoïde (Bors *et al.*, 2001). Une manière de palier à ce manque de solubilité consiste à conjuguer la quercétine pour former un complexe capable de rester en suspension dans le milieu aqueux. Elle est aussi capable

d'associer avec certaines molécules solubles comme la cyclodextrine (**Ficarra et al., 2002** ; **Calabrô et al., 2004**).

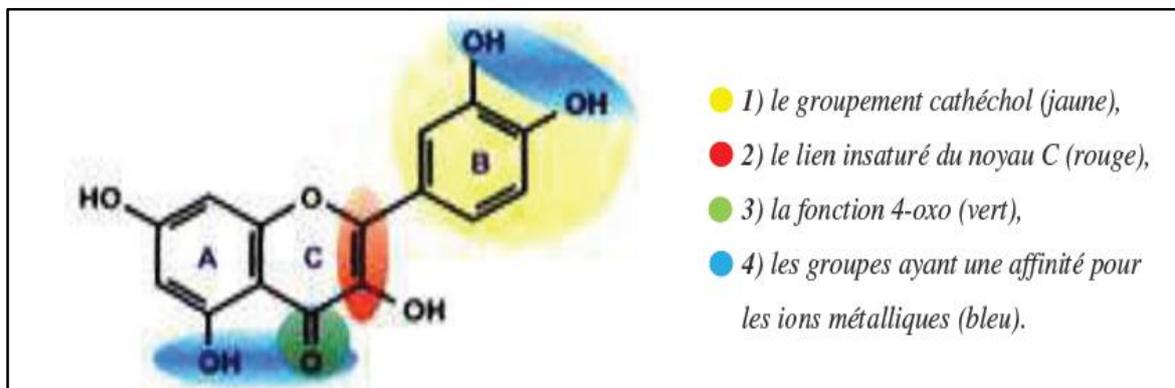


Figure 11. Structure de la quercétine et leurs caractéristiques. (**Williams et al., 2004**).

La quercétine est capable d'agir au niveau de la voie intrinsèque et/ou extrinsèque pour contourner la résistance à TRAIL (**Manouchehri et al., 2016**), en modulant des régulateurs clefs de l'apoptose (Fig.12) tels que les récepteurs de TRAIL, c-FLIP, les protéines des familles Bcl-2 ou IAP, facteurs de transcription, des voies de survie tels l'Akt et les MAPK (**Turner et al., 2016** ; **Williams et al., 2004** ; **Toumi, 2016**).

Cette polyvalence expliquée comment ces composés sont capables de contourner différents types de résistance à TRAIL, comme par exemple un blocage de la voie extrinsèque, de la voie intrinsèque, ou l'activation de voies de survie. Dans la plupart des cas, le suppresseur de tumeur p53 n'est pas requis pour l'obtention de l'effet synergique (**Bouhaddouda., 2016** ; **Manouchehri et al., 2016** ; **Turner et al., 2016**). La grande capacité de quercétine à contrecarrer les radicaux libres et à chélater les ions des métaux de transition est directement liée à leurs caractéristiques structurales. Il est prouvé que cette activité est due aux nombres et aux positions des groupements hydroxyles présents sur les cycles benzoïques (**Turner et al., 2016**). La quercétine agit contre la peroxydation lipidique de deux façons ; par la protection des lipides contre les initiateurs de l'oxydation ou par l'arrêt de la phase de propagation. Dans le premier cas, les antioxydants dits préventifs entravent la formation des ERO ou éliminent les espèces réactives responsables de l'initiation de l'oxydation comme $O^{\circ 2}$, O° et OH° (**Maalik et al., 2014**). Dans le deuxième cas, les antioxydants dits briseurs de chaîne perdent généralement un atome d'hydrogène en faveur des radicaux propagateurs de l'oxydation (LOO°) pour stopper la propagation de la peroxydation (fig.12) (**Laguerre et al., 2007** ; **Leopoldini et al., 2011**).

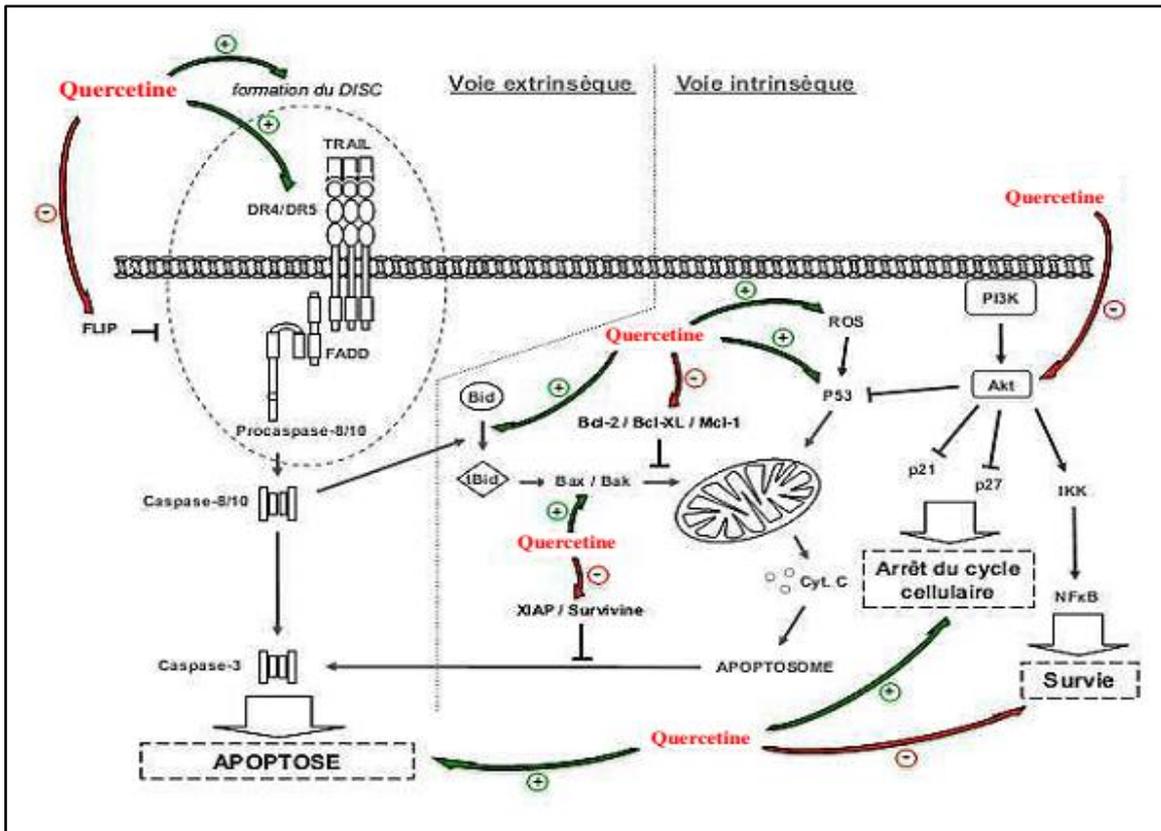


Figure 12. Modes d'action de la quercétine dans la cellule cérébrale (Bouhaddoua., 2016).

4.4 TOXICITE

A plus fortes doses (>40 μM), la quercétine aurait un effet pro-oxydant en favorisant la formation de radicaux libres (Sakao *et al.*, 2009). Ce stress oxydatif entraînerait des dommages à l'ADN irréversibles, conduisant au déclenchement de l'apoptose (Manouchehri *et al.*, 2016). La quercétine utilisée à de telles concentrations aurait donc un effet thérapeutique, et préventif (Turner *et al.*, 2016). De façon surprenante, cet effet proapoptotique de la quercétine cible spécifiquement les cellules malignes en épargnant les cellules saines. L'origine de cette spécificité n'est pas encore clarifiée (Guillaume Jacquemin, 2010).

DEUXIEME PARTIE

ETUDE

EXPERIMENTALE

CHAPITRE I

MATERIEL

ET

METHODES

1 MATERIEL

1.1 ANIMAUX

Notre étude expérimentale a été réalisée sur 40 lapins mâles *Oryctolagus cuniculus* de races Néo-Zélandais, provenant de l'institut Pasteur d'Alger, âgés de 07 à 09 semaines pesant environ 1700 à 2700 g.

1.1.1 CLASSIFICATION DU LAPIN

Le nom scientifique du lapin européen, *Oryctolagus cuniculus*, a été donné par Linnéen 1758. L'étymologie du genre *Oryctolagus* vient du grec *oruktês* (fouisseur) et *lagôs* (lièvre). Ce petit mammifère placentaire fait partie de la sous-famille des Léporidés, qui comprend aussi les lièvres, et de la famille des Léporidés incluse dans l'ordre des lagomorphes, comme les pikas. (Yanni, 2004).

Tableau 4. Classification du lapin domestique (Yanni, 2004)

Règne	<i>animal</i>
Embranchement	<i>cordée</i>
Sous- embranchement	<i>Vertébré</i>
Classe	<i>Mammifère</i>
Sous-classe	<i>Thérien</i>
Infra-classe	<i>Euthérien</i>
Ordre	<i>Lagomorphe</i>
Famille	<i>Léporidés</i>
Genre	<i>Oryctolagus</i>
Espèce	<i>Oryctolagus cuniculus</i>

1.1.2 INTERETS DU LAPIN POUR LES RECHERCHES SCIENTIFIQUE

Le lapin Néo-Zélandais, avec un poids entre 2 kg et 5 kg, est le plus fréquemment utilisé, mais d'autres souches peuvent être employées telles que le Fauve de Bourgogne, le Californien, le Hollandais et le Géant des Flandres blanc (Yanni, 2004).

1.1.2.1 ROLE DES LAPINS AU LABORATOIRE

Le nombre important de travaux consacrés à l'étude des lapins de laboratoire montre combien de fois ces animaux sont utiles. **Guy JADOT** en 1981 citant **SACQUETE**. Définissait le lapin au laboratoire comme suit "*c'est un réactif biologique de même que le chimiste utilise des produits aussi parfaitement définis que possible de même le biologiste utilise les lapins comme un réactif expérimental*".

Les lapins de laboratoire ont de nombreux liens de parenté avec l'espèce humaine ; ainsi l'anatomie, la physiologie et la pathologie comparées mettent en évidence de nombreuses applications pratiques pour l'homme (**Nechar, 1990**).

1.1.2.2 UTILISATION DES LAPINS EN TOXICOLOGIE

Depuis la fin des années 1930, le lapin est souvent utilisé pour les tests de la toxicité, et de la sécurité en recherche, et dans l'industrie pharmaceutique pour plusieurs raisons. Le lapin est un animal robuste avec une période de gestation courte. Comme il a été déjà mentionné, sa petite taille rend son élevage possible dans un espace restreint, et minimise la quantité de réactif à tester, mais en même temps il est assez grand pour pouvoir visualiser les premières irritations et observer les fœtus. Le lapin est hypersensible aux agents tératogènes, et sa réponse à ces agents est très semblable à celle de l'homme contrairement à la souris (**Anderson et Henck, 1994**).

Le lapin a aussi été très utilisé pour étudier la physiopathologie et l'immunologie d'un grand nombre des maladies infectieuses d'origine virale [encéphalites provoquées par le virus Herpès Simplex (VHS) (**Weissenbock et al., 1997**) ; virus de l'immunodéficience humaine (VIH) avec des lapins transgéniques exprimant la protéine CD4 humaine (**Speck et al., 1998**), bactériologique [pour isoler des bactéries ne se multipliant pas sur milieu artificiel et tester les doses d'antibiotiques nécessaires, comme pour *Treponema pallidum*, responsable de la syphilis, ainsi que pour différents modèles d'infection du tractus digestif] ou mycosique (**Fox, 1994**).

1.1.2.3 UTILISATION DES LAPINS EN MEDECINE

Le lapin est un modèle pour la recherche biomédicale principalement dans l'étude de l'athérosclérose et des papillomavirus. Pour ces maladies, le lapin semble plus pertinent que la souris. Il est aussi très intéressant pour la recherche ophtalmologique et en biologie du développement. Par ailleurs, l'étude de certaines maladies humaines physiologiques ou

génétiques, comme l'athérosclérose et les cardiomyopathies hypertrophiques familiales (**Marian et al., 1999**) ou de maladies infectieuses virales comme le SIDA (Syndrome d'Immunodéficience Acquise) et l'étude des phénomènes de rejet de greffes lors de xénotransplantations (**Bosze et al., 2003 ; Fan et Watanabe, 2003**) bénéficient beaucoup de la création de lapins transgéniques spécifiques. En effet, ils aident à comprendre l'implication de certaines protéines dans le mécanisme des maladies étudiées en analysant l'effet des gains ou des pertes de fonction de gènes ciblent.

1.2 PRODUITS CHIMIQUES

Dans ce travail, nous avons utilisé La deltaméthrine (*Deltamethrin*[®]) fabriqué par *Averstar industrial Co., Ltd, Sz, de la Chine*. La phosalone (*ZOLONE*[®]) acheté de *SEPCM de la Tunisie*. La quercétine pourchassée de *Sigma Aldrich, Germany*. Pour l'évaluation des paramètres biologiques nous avons utilisé des produits et des réactifs majoritairement provenant de *sigma, Germany* et *Biochem, France*.

2 METHODES

2.1 ENTRETIEN DES ANIMAUX

Les lapins ont été répartis en huit (08) lots à raison de cinq (05) lapins par lot. Ils ont été soumis à une période d'adaptation de 25 jours dans l'animalerie de département de biologie, Faculté des Sciences, Université de Tébessa où la température ambiante est de $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ et une photopériode naturelle 12/12H avec une hygrométrie de 60 %. Les lapins ont été logés individuellement dans des cages métalliques,. Ces cages sont nettoyés une fois chaque semaine jusqu'à la fin de l'expérimentation, Les animaux ont accès à volonté à la nourriture et à la boisson. Ils ont été nourris d'un concentré de croquets énergétiquement équilibré composé de maïs 62(%), le soja 26(%), phosphate 1,6(%), cellulose 1,0(%), minéraux 1,0(%), vitamines 1,0%).

2.2 MESURE DE POIDS

La mesure de poids est effectuée sur les lapins chaque jour pendant toute la durée du traitement, (pour évaluer les effets des xénobiotiques) à l'aide d'une petite balance de 10 kg (Marque *Aston*[®]),

2.3 CHOIX DES DOSES

Dans cette étude, nous avons utilisé deux pesticides (la phosalone et la deltaméthrine) seuls ou en mixture à des doses respectivement de 02mg/kg/j et 01mg/kg/j administrées par voie orale pendant 15 jours. Le choix de ces doses est basé sur des études réalisées sur l'exploration de ces deux pesticides dans les matrices biologiques qui ont montré des valeurs de 0,2 à 800 ng/g de deltaméthrine (DM) dans le miel (**Haddadi et Shirani, 2014**) et de 24 à 105 ng/l de phosalone (PHO) dans l'eau (**Projet d'acceptabilité d'homologation continue, 2005**). Il est à mentionner que ces doses sont très proches à la réalité et sont susceptibles de contaminer la population générale. Par ailleurs, la dose de la quercétine (QR) utilisée en traitement préventif des animaux contre la toxicité des pesticides utilisés était de 10 mg/kg/j selon des études récentes (**Teixeira, 2002 ; Lahoual et al. 2015 ; Beghoul et al.2017 ; Gasmi. 2017**).

2.4 REPARTITION ET TRAITEMENT DES LAPINS

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

- 1) *Lots T* : lot témoin (T) reçoit l'eau minérale par gavage 1.5 ml/kg/j pendant 15 jours.
- 2) *Lots PHO* : traité par la PHO recevant 02mg/kg/j pendant 15 jours.
- 3) *Lots DM* : traité par la DM recevant 01mg/kg/j pendant 15 jours.
- 4) *Lots QR* : traité par la QR à la dose de 10mg/kg/j pendant 15 jours.
- 5) *Lots PHO/DM* : traité par la DM (01mg/kg/j) et la PHO (02mg/kg/j) pendant 15 jours.
- 6) *Lots PHO/QR*: recevant la QR (10mg/kg/j) et la PHO (02mg/kg/j) pendant 15 jours.
- 7) *Lots DM/QR* : traité par la QR (10mg/kg/j) et la DM (01mg/kg/j) pendant 15 jours.
- 8) *Lots PHO/DM/QR* : traité par la QR (10mg/kg/j), PHO (02mg/kg/j) et la DM (01mg/kg/j) pendant 15 jours.

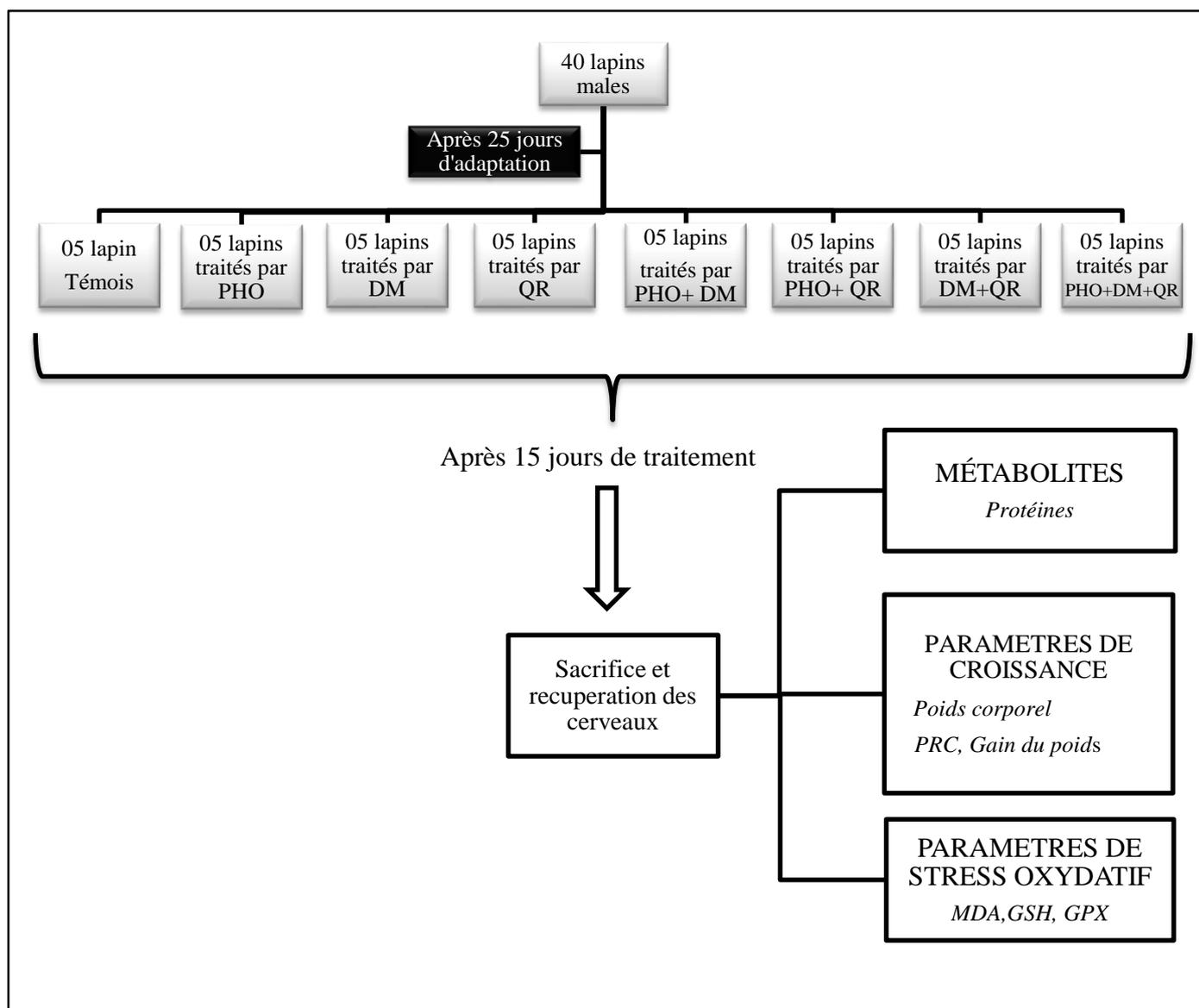


Figure 13. Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

2.5 SACRIFICE ET RECUPERATION DES CERVEAUX :

A la fin de la période du traitement, les lapins ont été mis à jeun durant une nuit, ensuite ils ont été sacrifiés le matin par décapitation.

Après avoir récupérer et rincer les cerveaux dans le tampon de lavage (serum physiologique NaCl 0.9%) à froid, ces derniers ont été pesés par une balance de 500g (Marque *Aston*®) puis ils ont été conservés au congélateur à -20°C pour le dosage des paramètres de stress oxydant.

2.6 ESTIMATION DU POIDS RELATIF DU CERVEAU

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

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

PC : poids du cerveau (g). *PT*: poids total Du lapin(g). *PRC*: poids relatif des cerveaux (g)

2.7 PREPARATION DES ECHANTILLONS CYTOSOLIQUES

Afin de préparer les échantillons cytosoliques, quatre grammes de tissu nerveux a été homogénéisé dans 8 ml de solution de tampon phosphate salin (PBS ; pH 7,4). Ensuite les homogénats ont été centrifugés à 3000t/min pendant 15min à 4°C et le surnageant résultant a été utilisé pour la détermination de taux de MDA, GSH et l'activité enzymatique de GPx.

2.8 DOSAGE DES PROTEINS

La méthode utilisée pour le dosage des protéines est celle de **Bradford (1976)** qui utilise la BSA comme standard, sur le même échantillon utilisé pour doser les lipides, on récupère le culot issu de la deuxième centrifugation auquel on a ajouté 1ml du NaOH (0.1N) et on agite énergétiquement pour la dissolution des protéines. Après, on prélève, au moyen d'une micropipette, un volume de 100µl auquel on ajoute 4ml du réactif BBC (Bleu Brillant de Coomassie) (50mg BBC +50ml d'acide orthophosphorique à 85% et on complète à 500ml avec l'eau distillée). Ainsi une couleur bleue se développe et on passe directement les échantillons pour lecture à une longueur d'onde 595nm. Le calcul des concentrations se fait par l'équation déduite de la gamme d'étalonnage réalisé à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (**Annexes1**).

2.9 EVALUATION DES PARAMETRES DU STRESS OXYDATIF

2.9.1 DOSAGE DE GLUTATHION (GSH)

❖ Principe et mode opératoire

Le dosage du glutathion est réalisé selon la méthode de **Weckbecker et Cory (1988)**. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique, ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Une fois préparé,

l'échantillon (cytosol/matrice) doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique (0.25%) afin de protéger les groupements-SH du glutathion. Brièvement ; les échantillons (200mg de tissu) sont mis individuellement en présence de 8 ml de solution d'EDTA (Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique) à 0,2M. Le mélange mis dans des glaçons est broyé à l'aide d'un pilon en porcelaine. L'homogénat est ensuite déprotéinisé en prenant 0.8ml de ce dernier auquel on ajoute 0.2ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) à 0.25%. Le mélange est vortexé et laissé pendant 15min dans un bain de glace, et centrifugé ensuite pendant 5min à 1000t/m in. 0.5ml du surnagent est prélevé auquel est ajouté 1ml de tampon tris-HCL+EDTA (0.02M), pH 9.6. Au mélange est ajouté 0.025ml de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01M dissous dans le méthanol absolu. Le mélange est laissé reposer pendant 5min à température ambiante et l'absorbance (A) est mesurée à 412nm.

❖ Expression des résultats

$$(\text{GSH})(\text{nM}/\text{mg de prot}) = \frac{\text{Do} \times 1 \times 1.525}{13133 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg de prot}} \times d$$

- **13133**: constante d'absorption des groupes SH à 412 nm.
- **DO**: la lecture d'absorbance par le spectrophotomètre.
- **1.525 ml**: volume total de mélange.
- **0.5 ml**: volume de solution surnagent.
- **1**: volume de mélange de protéine.
- **0.8ml**: volume de solution homogène sans protéine existe dans 1ml.
- **(GSH)**: concentration de glutathion.
- **d** : facteur de dilution.

2.9.2 DOSAGE DU MALONDIALDEHYDE (MDA)

❖ Principe et mode opératoire

Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode **d'Esterbauer *et al* (1992)**. Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique, pour former un pigment rose. Une quantité de 375µl de surnageant est prélevée dans un tube sec, auquel est ajouté un volume de 150µl de la solution TBS (tris

50mM, NaCl (150mM ; pH7.4) et 375µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%), le mélange est Vortexé et centrifugé à 1000t/min pendant 10min. Un volume de 400µl est prélevé du surnageant auquel on ajoute 80µl du HCL 0.6M et 320µl de la solution tris-TBA (tris 26mM, TBA120mM). En fin, le mélange est vortexé et est ensuite incubé au bain marie à 80°C pendant 10minutes. La lecture de la densité optique des échantillons est mesurée par spectrophotométrie à 530 nm.

❖ Expression des résultats

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

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

2.9.3 DOSAGE DE GLUTATHION PEROXYDASE (GPX)

❖ Principe et mode opératoire

L'activité enzymatique de la GPx est mesurée par la méthode de **Flohe et Gunzler (1984)**, en utilisant H₂O₂ comme substrat. Un volume de 0.2ml de cytosol/matrice est récupéré dans un tube contenant 0.4ml de GSH 0.1mM et 0.2ml de tampon phosphate 0.067M, pH 7.8. Le mélange est incubé au bain marie à 25°C pendant 05min. 0.2ml d'H₂O₂ 1.3mM est ajouté pour initier la réaction. Après 10min 1ml de TCA 1% (acide tri chloro-acétique) est rajouté dans le but d'arrêter la réaction et le mélange est mis dans la glace pendant 30min et centrifugé durant 10min a 3000t/mn. Un volume de 0.48 ml de surnageant est placé dans une cuve auquel on ajoute 2.2ml de Na₂HPO₄ 0.32M avec 0.32ml de DNTB 1mM. Ce mélange forme un composé coloré et sa densité optique est mesurée à 412nm chaque 30sec pendant 05min.

❖ Expression des résultats

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

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

- DO échantillon: Densité optique de l'échantillon.
- DO étalon: Densité optique de l'étalon.
- 0.04: Concentration de substrat (GSH).

2.10 ANALYSES STATISTIQUE

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne (moyen \pm écart type), les comparaisons entre les groupes sont réalisées par une analyse de variance (one-way ANOVA). L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Minitab® 17.1. La signification de différence entre le lot témoin et les lots traités est vérifiée en utilisant le test de *Dunette*:

- ✓ $p > 0,05$ = la différence n'est pas significative.
- ✓ (*) $0,05 > P > 0,01$ = la différence est significative.

CHAPITRE II

RESULTATS

ET

DISCUSSION

1 RESULTATS

1.1 EFFETS DES PESTICIDES ET DE QUERCETINE SUR LES PARAMETRES DE LA CROISSANCE DES ANIMAUX

Les résultats de l'évaluation des paramètres de croissance en terme de poids corporel, le gain de poids et le poids relatif durant les 15 jours de traitement des différents groupes d'animaux par les différents pesticides, leur mixture et le composé phénolique sont illustrés par les figures (13-14).

1.1.1 EVOLUTION DU POIDS CORPOREL

Les résultats de l'évaluation du poids corporel montrent une diminution significative ($p \leq 0,05$)(*) de poids corporel chez les lapins traités par PHO , DM et PHO+DM (fig.13) par rapport aux lapins témoins.

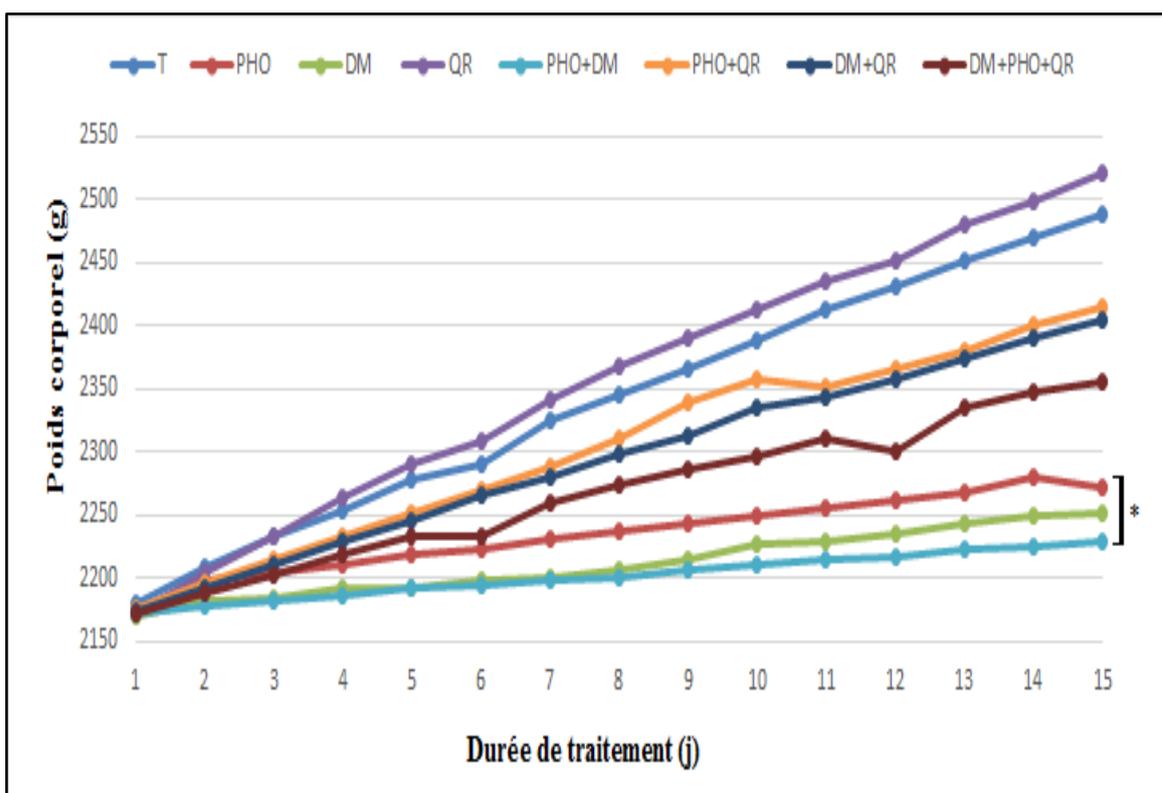


Figure 14. Changement cinétique du poids corporel (PC) chez les différents groupes traités durant 15 jours par les pesticides et à la quercétine.

Ces résultats montrent aussi une perturbation et une diminution significative ($p \leq 0,05$) du poids corporel chez les groupes traités par la PHO, la DM et aussi les combinaisons PHO+DM et PHO+DM+QR par rapport au groupe témoin. Alors que, on n'enregistre aucune différence significative du poids corporel chez les groupes traités par la QR, PHO+QR, DM+QR par rapport au groupe témoin (fig.14).

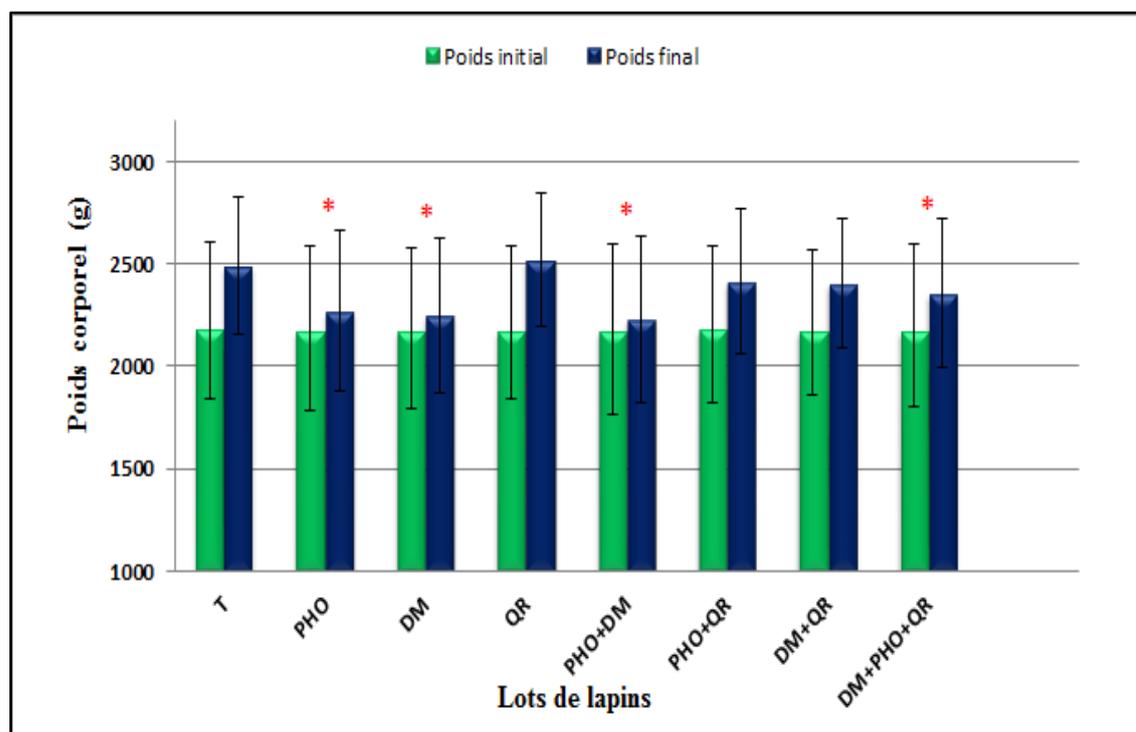


Figure 15. Différence entre poids initial et final.

1.1.2 GAIN DU POIDS (GP)

Les résultats de l'évaluation du gain de poids (fig.15) présentent une diminution significative ($p \leq 0,05$) du gain du poids chez les lots traités par DM, PHO, PHO+DM et PHO+DM+QR en comparaison avec le lot témoin. Au contraire, on observe une amélioration non significative du gain du poids chez le lot traité par la quercétine, on observe aussi une amélioration de gain de poids à chaque fois qu'on associe la quercétine aux pesticides.

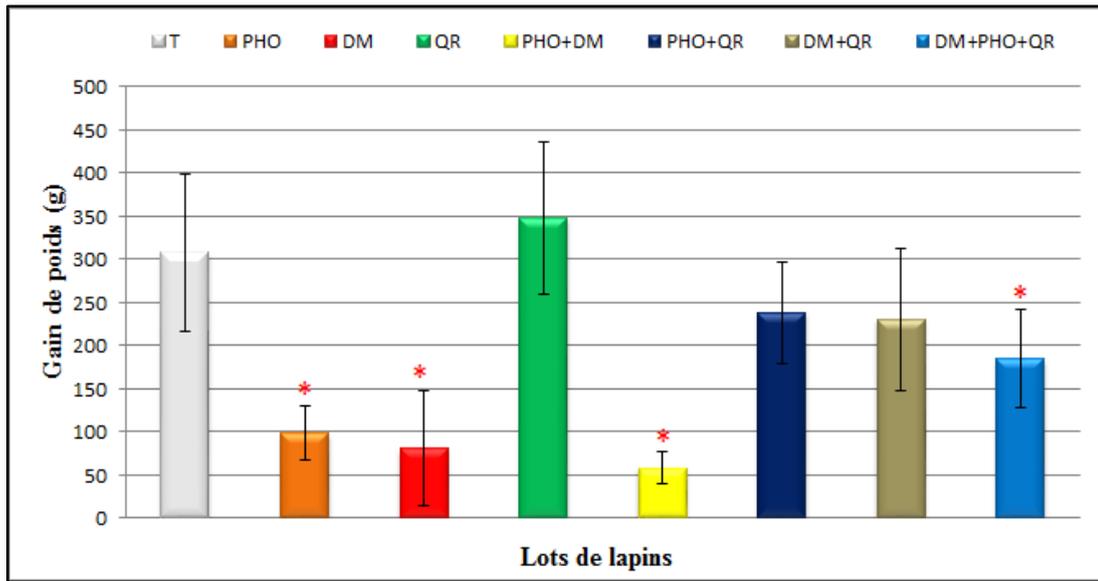


Figure 16. Evaluation du gain de poids corporel (GP) après 15 jours de traitement par les pesticides et la quercétine.

1.1.3 POIDS RELATIF DU CERVEAU (PRC)

Les résultats obtenus suite à l'évaluation du PR montrent une augmentation significative ($P > 0,05$) (*) du poids relatif du cerveau chez le groupe traité par la DM, PHO et DM+PHO en comparaison avec le groupe témoin, par contre le traitement des animaux par la QR seule ou associée aux pesticides a diminué cette augmentation d'une manière non significative par rapport au groupe témoin (fig.16).

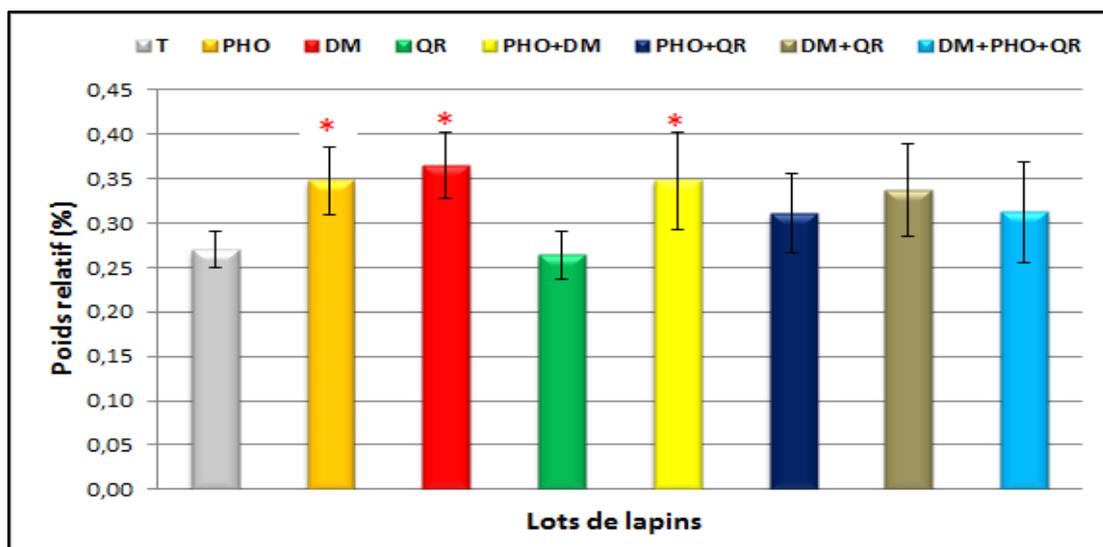


Figure 17. Evolution du poids relatif du cerveau (PRC) chez animaux après 15 jours de traitement par les pesticides et la quercétine.

1.2 EFFETS DES PESTICIDES ET DE QUERCETINE SUR LES PARAMETRES BIOCHIMIQUES ET LE STATUT REDOX DANS LE CERVEAU

1.2.1 PROTÉINES

Les résultats obtenus montrent une diminution significative ($p \leq 0,05$) du taux des protéines totales du cerveau chez le lot DM et le lot PHO+DM comparés au témoin. Ces mêmes résultats montrent également un état de stabilité dans la teneur cotylosolique en protéines chez les lots traités par QR, PHO+QR, DM+QR et QR+DM, par rapport au groupe témoin (fig.17).

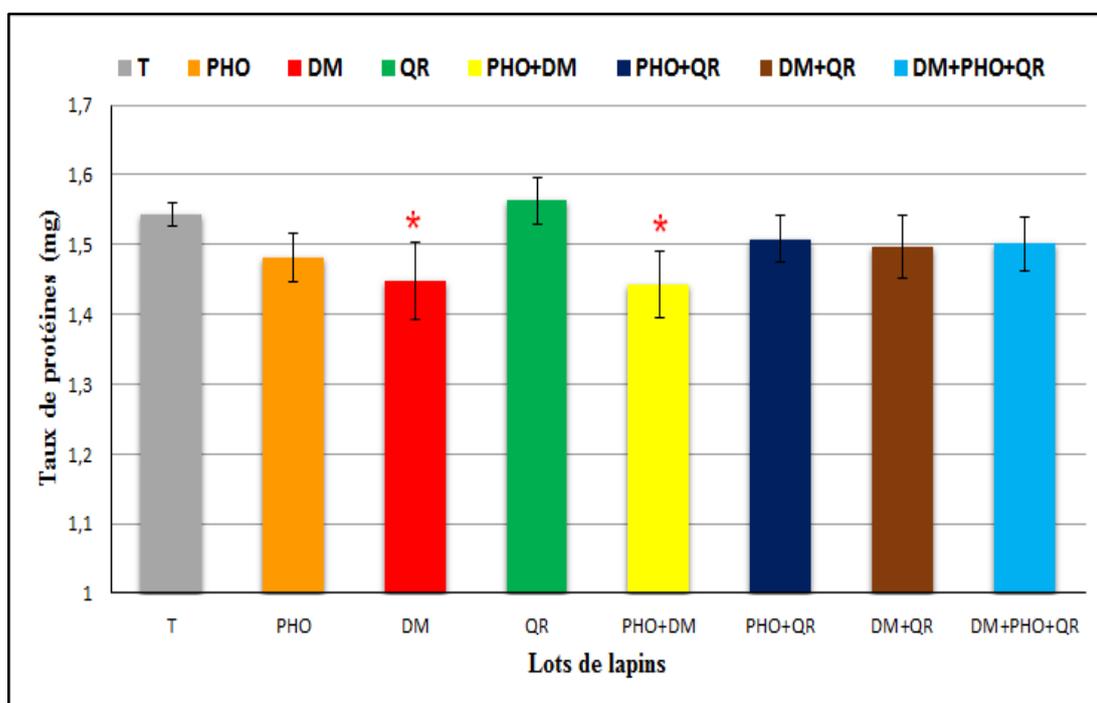


Figure 18. Variation du taux de protéines dans le cerveau après 15 jours de traitement par les pesticides et la quercétine.

1.2.2 GLUTATHION (GSH)

Les résultats représentés dans la figure 18 montrent une diminution significative ($p \leq 0,05$) du taux de GSH cytosolique dans le cerveau chez les lots traités par, DM et DM+PHO par rapport au groupe témoin. Le reste des groupes n'ont montré aucun changement significatif du taux de GSH.

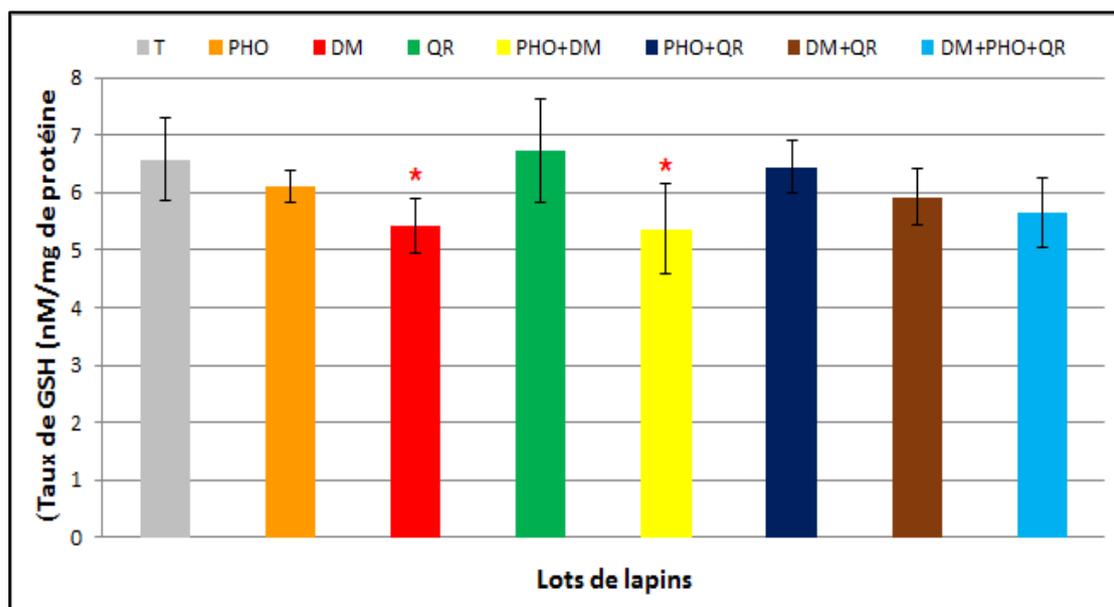


Figure 19. Variation du taux de GSH dans le cerveau après 15 jours de traitement par les pesticides et la quercétine.

1.2.3 GLUTATHION PEROXYDASE (GPX)

Une diminution significative ($p \leq 0,05$) (*) de l'activité de GPx cytosolique a été enregistrée dans le cytosol des cellules cérébrales chez les lots traités par, DM et PHO+DM par rapport au groupe témoin. Par contre, les résultats ne montrent pas une variation significative chez les autres groupes traités (fig.19).

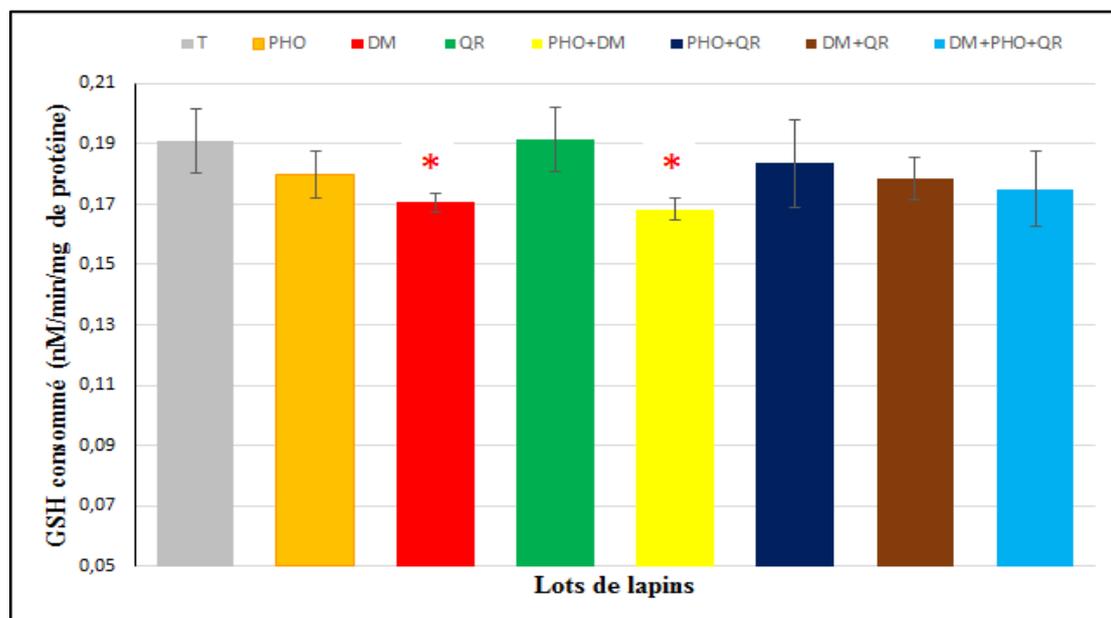


Figure 20. Variation de l'activité de GPx dans le cerveau après 15 jours de traitement par les pesticides et la quercétine.

1.2.4 MALONDIALDEHYDE (MDA)

Nos résultats montrent une augmentation significative ($p \leq 0,05$) du taux de MDA cytosolique chez les groupes traités par la DM, PHO+DM et DM+PHO+QR par rapport au groupe témoin (fig.20).

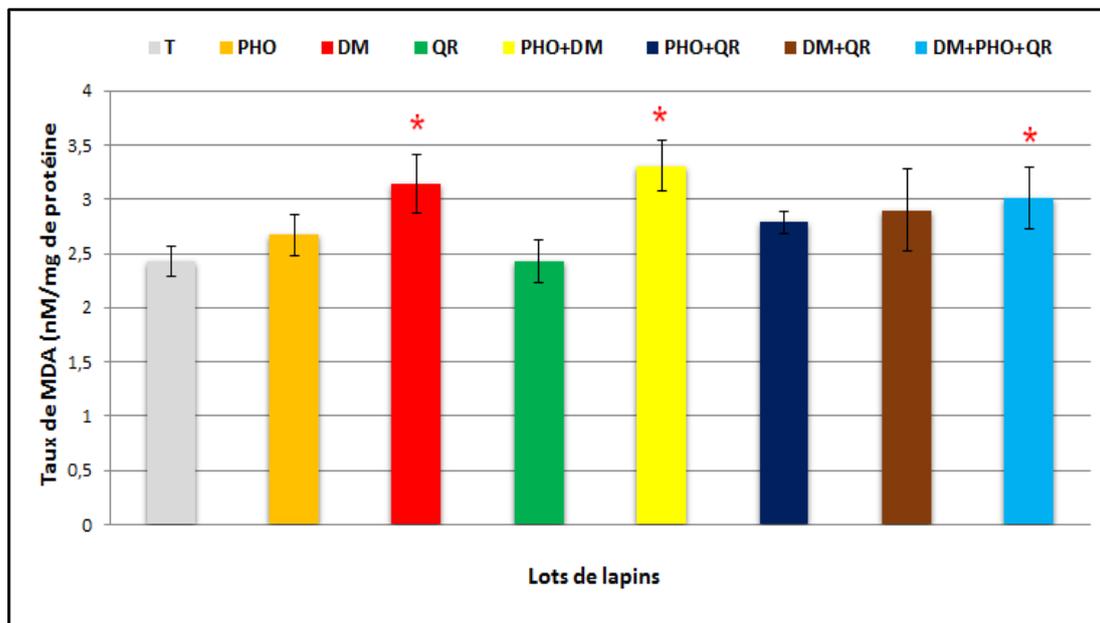


Figure 21. Variation du taux de MDA dans le cerveau après 15 jours de traitement par les pesticides et la quercétine.

2 DISCUSSION

L'objectif de notre étude c'est l'évaluation des éventuels effets neurotoxiques sur le cerveau chez les lapins exposés de façon sub-chronique à des doses plus réalistes possibles de la deltaméthrine (DM), de la phosalone (PHO) et de leur mixture et en second lieu à l'intérêt de la protection contre cette toxicité par la quercétine (QR).

2.1 EFFETS DES PESTICIDES ET LA QUERCETINE SUR LES PARAMETRES DE LA CROISSANCE GLOBALE

Les résultats obtenus d'après notre étude de l'effet du traitement par la PHO et la DM sur le poids corporels des lapines montrent qu'il y a une diminution significative de la croissance corporelle des différents groupes, due peut être à la réduction de la consommation alimentaire au cours de l'expérimentation, En effet, de nombreux mécanismes d'action ont été établis pour expliquer l'anxiété liée au stress, comme le stress oxydatif engendré par les ROS constaté dans cette étude, la libération de glucocorticoïdes, l'altération du système GABAergique, la sécrétion de l'adrénaline et de la sérotonine (**Jocelien et al., 2013; Guedri et al., 2017**), cette diminution traduite, ainsi que par d'autres médiateurs chimiques tels que certains cytokines pro-inflammatoires que l'organisme puisse libérer après les effets toxiques des pesticides (**Carole et Harve, 2011 ; Viviana, 2015**). Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Rezzag et Serouti (2015)**, qui ont signalé une réduction dans la consommation de la nourriture chez les lapins mâles survenue à une toxicité subchronique. Par ailleurs, l'utilisation de la quercétine a montré une amélioration de ces paramètres pondéraux des animaux. Ceci pourrait être la conséquence de son pouvoir antioxydant en normalisant l'homéostasie redox intracellulaire et le rétablissement de l'état psychique des animaux (**Cliona et al., 2011 ; Toumi et al., 2013**).

Nos résultats de l'évaluation du PRC montrent une augmentation significative du poids relatif du cerveau chez le groupe traité par la DM, PHO et DM+PHO peut être due à la diminution du poids corporel des animaux traités par ces pesticides.

2.2 EFFETS DES PESTICIDES ET LA QUERCETINE SUR LE TAUX DES PROTEINES

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

2.3 EFFETS DES PESTICIDES ET DE QUERCETINE SUR LE STATUT REDOX

D'après les résultats obtenus de cette étude, l'exposition des animaux aux pesticides seuls ou en mixture présente un déséquilibre du statut redox cytosolique dans le cerveau caractérisé par une chute significative du potentiel antioxydant. En effet, la peroxydation lipidique est accentuée et une perte énorme de la teneur cellulaire en GSH et l'activité de la GPx a été significativement diminué chez les lots traités par la deltaméthrine seule ou en mixture avec la phosalone par rapport à celles de la contrôle. Nos résultats sont en concomitance avec ceux rapportés par **Ansari et al (2012)** évaluant l'impact des pesticides sur l'homéostasie redox chez le rat, sachant bien entendu qu'une surproduction de ROS favorise le risque de nécrose et/ou de l'apoptose cellulaire (**Zou et al., 1999 ; Rjeibi, 2016**).

Le GSH est un tripeptide bien connu pour être un élément de la première ligne de défense contre le stress et considéré dès lors un composé essentiel qui maintient l'intégrité cellulaire grâce à sa propriété réductrice et sa participation active dans le métabolisme cellulaire (**Sauer, 2014 ; Aoun et Tiranti, 2016**). Certains des rôles importants de glutathion sont la réduction ou l'inactivation des ROS par la formation de glutathion

disulfure (GSSG) et la conjugaison du glutathion réduit (GSH) pour l'élimination des xénobiotiques (**Di-Monte et Lavasani, 2002 ; Arora et al., 2016 ; Rjeibi, 2016**). Les résultats obtenus de l'évaluation de GSH dans le cytosol après l'exposition sub-chronique des animaux aux pesticides, ont présenté une diminution significative de sa teneur dans le cerveau. Ce constat expérimental est tout à fait en adéquation avec les travaux réalisés par **Chakroun et al (2016)** et **Beghoul et al (2017)**. La réduction du niveau de GSH peut être due à la conjugaison directe de GSH avec des espèces électrophiles produites par l'exposition aux pesticides ou en raison de l'inhibition de GR et de GPx, Il est également rapporté qu'un niveau élevé de GSSG inhibe un certain nombre de systèmes enzymatiques importants, y compris la synthèse des protéines.

La GPx est l'enzyme qui joue un rôle primordial dans la minimisation des dommages oxydatifs. L'exposition aux pesticides a réduit le niveau de GPx dans le cerveau des lapins dans cette étude. Cette réduction peut être due à l'appauvrissement du GSH. Les mêmes résultats sont apportés par d'autres travaux sur l'impact des pesticides et sur le cerveau de l'organisme animal (**Gasmi S., 2018**).

Il est admis maintenant que les dommages cellulaires peuvent être estimés par le taux de MDA, et est considéré comme l'un des indicateurs fondamentaux renseignant sur les dommages cellulaires causés par les ROS. La réduction des activités des enzymes antioxydants améliore la génération de radicaux superoxydes et de peroxyde d'hydrogène dans le cerveau. Ces dernières peuvent attaquer les liaisons insaturées des lipides dans les membranes plasmiques par une peroxydation lipidique donnant une décomposition oxydante d'acides gras polyinsaturés composant les lipides de ces membranes (**Liu et al., 2002 ; Gadoth et Gobel, 2011 ; Amin et Hashem, 2012 ; Ahmad et al., 2013 ; Dubey et al., 2013**). Sachant que les peroxydes lipidiques peuvent causer des dommages graves non seulement dans la membrane cellulaire mais aussi pouvant inhiber plusieurs enzymes, et altérer également la fonction mitochondriale conduisant au final à la mort cellulaire (**Buege et al., 1984 ; Carole et al., 2011**).

L'utilisation de la quercétine comme molécule protectrice contre les effets délétères des pesticides a amélioré de façon significative le statut redox dans le cytosol du cerveau, la propriété de la quercétine peut être due à son pouvoir de chélation des métaux, piège les ROS et leur activité antioxydant, aide à soulager le stress oxydatif, la survie

cellulaire et augmente le niveau de protéines totales. Ces résultats sont en accord avec le travail de **Gasmi S (2018)**.

CONCLUSION

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

L'exposition sub-chronique à la DM et/ou à la PHO respectivement à une dose de 01 mg/kg per os et 02 mg/kg per os aux lapins pendant 15 jours peuvent produire :

- Une perturbation du métabolisme protéique, accompagné par un déficit pondéral remarquable (le poids, le poids relatif et le gain de poids)
- Provoquent également des altérations dans le bilan de stress oxydatif et d'apoptose cellulaire qui traduit par une perturbation de taux cytosolique de GSH, MDA et l'activité de la GPx dans le cerveau.

Le gavage de la quercetine à dose de 10 mg/kg/j pendant 15 jours aux lapins exposés au DM et/ou PHO a rétabli toutes les valeurs à la normal, ce qui traduit l'effet protecteur de la quercetine sur la fonction neuronale. Ces résultats confirment que le traitement par la quercetine à dose de 10mg/kg/j a pu protéger l'organisme contre les effets neurotoxiques des pesticides (DM et PHO).

REFERENCES

REFERENCES

A

- Abdel-Daim M., El-Bialy E., Haidy G., Abdel R., Abeer M., Radi A., Ahmed H ., 2016.** «Antagonistic effects of *Spirulina platensis* against subacute Deltamethrin toxicity in mice». *Biomed Pharmacother.* 77:79–85.
- Abiola F.A., Mohamadou B., Baschirou., 1990.** «Utilisation du butox N. D. (deltaméthrine) dans le contrôle des glossines, vecteurs de la trypanosome sur le plateau de l'Amadou au Cameroun». *Revue Méd. Vét.* 7:565-573.
- Ahmad M., Adil D., Khan M., 2013.** «Effect of Repeated Oral Administration of Bifenthrin on Lipid Peroxidation and Anti-oxidant Parameters in Wistar Rats». 125-128.
- Amin KA., Hashem KS., 2012.** «Deltamethrin-induced oxidative stress and biochemical changes in tissues and blood of catfish: antioxidant defense and role of alpha-tocopherol». *BMC* 6148:8-45.
- Anderson J. et Henck J., 1994.** Toxicity and safety testing. *The Biology of the Laboratory Rabbits.* 2^{ème} éd. San Diego: Academic. Press. pp: 449-467.
- Andreazza AC., Cassini C., Rosa AR., 2007.** «Serum S100B and antioxidant enzymes in bipolar patients». *Psychiatric Research.* 41: 523-29.
- Ansari R. W., Shukla R. K., Yadav R. S., Seth K., Pant A. B., Singh D., Agarwal A. K., F., Khanna V. K., 2012.** «Dysfonctionnements cholinergiques et stress oxydatif accru dans la toxicité neurocomportementale de la lambda-cyhalothrine chez des rats en développement, neurotoxiques». *Res.* 22(4): 292–309.
- Aoun M., Tiranti V., 2016.** «Mitochondria: A crossroads for lipid metabolism defect in neurodegeneration with brain iron accumulation diseases». *Inter Journal Bioch & Cell Bio.* ?:01-018.
- Arnaud Messé., 2010.** Caractérisation de la relation structure-fonction dans le cerveau humain à partir de données d'IRM fonctionnelle et de diffusion. Nice : s.n. pp:235.
- Arora D., Haris S., Kumar S., Pratap S., Tripathi A., Mandal A., Shankar S., Kumar SH., Shukla H., 2016.** «Evaluation and physiological correlation of plasma proteomic fingerprints for Deltamethrin induced hepatotoxicity in Wistar rats». *LFS* 14866: 04-025.

Atessahin A., Yilmaz S., Karahan I., Pirincci I., Tasdemir B., 2005. «The effects of vitamine E and selenium on cypermethrin-induced oxidative stress in rats». Turk Journal Vet Anim Sci. 29: 385-39.

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

B

Badary OA., Abd EI-Gawad HM ., Taha RA., 2003. «Behavioral and neurochemical effects induced by subchronic exposure to 40 ppm toluene in rats». Pharmacol Biochem Behavior. 74: 997-1003.

Balaban RS., Nemoto S., Finkel T., 2005. «Mitochondria, Oxidants and Aging». Cell. 120: 483-495.

Barouki R., 2006. «Stress oxydant et vieillissement». Medecine & Sciences. 22(3): 266-272.

Basile A., Giordano S., Lopez Saez JA., Cobianchi BC., 1999. «Antibacterial activity of pure flavonoïds isolated from mosses». Phytochem. 2 (8): 1419-82.

Baudin B., 2006. «Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires». Mitoch Cardio. 2(1): 43-52.

Bauer B., Amsler S., Kabore I., 1993. «Traitement du bétail aux pyréthroïdes synthétiques. Tests de laboratoire et opérations de lutte contre les glossines avec considérations spécifiques de vulgarisation auprès des communautés rurales».

Bear MF., Connors BW et Paradiso MA., 2016. Neuroscience: Exploring the Brain. 4th ed. New York. pp: 7(612.8-dc23):1019.

Beghoul A., Kebieche M., Gasmi S., Chouit Z., Amiour C., Lahouel A., Lakroun Z., Rouabhi R., Fetoui H., Soulimani R., 2017. «Impairment of mitochondrial integrity and redox status in brain regions during a lowdose long-term exposition of rats to pyrethriñoïds: the preventive effect of quercetin». Environ Sci Pollut Res Doi : 10.1007/s11356-017-9675-0.

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.

- Benziane C., 2012.** Effet toxique des résidus des pesticides utilisés Sur la flore de la région de Sétif. These présenté pour l'obtenir diplôme de doctorat. pp : 83
- Berger M., 2006.** «Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances». Nutrition clinique et métabolisme. 20: 48-53.
- Bjorling-Poulsen M., Andersen H. R., Grandjean P., 2008.** «Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe». Environ Health. ? :7- 50.
- Blanchet G., Carpentier P., Lallement G., 1991.** «Vulnérabilité du système nerveux central vis -à-vis des neurotoxiques organophosp1991horés». Méd Armées. 19 : 403-7.
- Block ML., Hong JS., 2005.** «Microglia and inflammation mediated neurodegeneration: Multiple triggers with a common mechanism». Prog in neurobiology. ? : 11-22.
- Bonan H., et Prime J.L., 2001.** Rapport sur la présence de pesticide dans les eaux de consommation humaine en Guadeloupe. Ministère de l'aménagement et du territoire et de l'environnement. pp 138.
- Bonde. J.P., Toft. G., Rylander. L., Rignell.Hydbom.A., Giwercman.A., Spano. M., Manicardi.G.C., Bizzaro.D., Ludwicki.J.K., Zvezday.V., Bonefeld.Jorgensen. E. C., Pedersen.H. S., Jonsson. B. A., and Thulstrup. A. M., 2008.** «Fertility and markers of male reproductive function in Inuit and European populations spanning large contrasts in blood levels of persistent organochlorines». Environ Health Perspect. 116 : 269-277.
- Bonvallot N., 2014.** Application de la metabolomique a l'etude du lien entre les expositions environnementales aux pesticides pendant la grossesse et le developpement de l'enfant. Thèse Doctorat. SEVAB. INRA. pp 256.
- Bors W., Michel C., Stettmaier K., 2001.** «Structure-activity relationship governing antioxidant capacities of plant polyphenols». Methods in Enzymology. 335: 166-180.
- Bossy-Wetzel E., Newmeyer D., Green D., 1998.** «Mitochondrial cytochrome c release in apoptosis occurs upstream of DEVD-specific caspase activation and independently of mitochondrial transmembrane depolarization». EMBO Journal 17:37-49.
- Bosze Z., Hiripi L., Carnwath J., Niemann H., 2003.** «The transgenic rabbit as model for human diseases and as a source of biologically active recombinant proteins». Transgenic Res. 12 (5) : 541-553.
- Bouhaddouda N., 2016.** Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : Origanum vulgare et Mentha pulegium. Thèse Doctorat Univ Annaba. pp 205.

- Bradford M., 1976.** «A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding». *Ann Biochem.* 11(72) :248-254.
- British Neuroscience Association., 2003.** *Les Sciences du cerveau* .s.n ., ISBN : 0-9545204 -0-8.
- Bruneton J., 1993.** *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales.* Ed Lavoisier. Paris .pp 278-279.
- Buckingham M., Meilhac S., Zaffran S., 2005.** «Building the mammalian heart from two sources of myocardial cells». *Nature Reviews Genetics.* 6: 826-836.
- Buckley NA., Eddleston M., Li Y., Bevan M., Robertson J., Oximes., 2011.** «for acute organophosphate pesticide poisoning». *Cochrane SystRev.* 16 :85-50.
- Buege JA., et Aust SD., 1984.** *Microsomal lipid peroxidation.* *Methods Enzymol* 105 pp : 302-310.

C

- Calabrô ML., Tommasini S., Donato P., Raneri D., Stancanelli R., Ficarra P., Ficarra R., Costa C Catania S., Rustichelli C., Gamberini MC., 2004.** «Effects of α - and β -cyclodextrins complexation on the physicochemical properties and antioxidant activity of some 3-hydroxyflavones». *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 35: 365-377.
- Caramaschi D., de Boer S., Koolhaas JM., 2007.** «Differential role of the 5-HT 1A receptor in aggressive and non-aggressive mice». *Physiology & Behavior.* Doi : 10.1016/j.physbeh.2006.11.10.
- Carole I., et Harvé Q., 2011.** *Désordres métaboliques et réanimation : de la physiopathologie au traitement.* Berlin Heidelberg. New York. ISBN. 978-2-287-99026-7. pp 522.
- Casetta I., Govoni V., Granieri E., 2005.** «Oxidative stress, antioxidants and neurodegenerative diseases». *Curr Pharm.* 11(52): 20-33.
- Chakroun S., Ezzi L., Grissa I., Kerkeni E., Neffati F., Bhourri R., Sallem A., Najjar MF., Hassine M., Mehdi M., Haouas Z., Ben Cheikh H., 2016.** «Hematological, biochemical, and toxicopathic effects of subchronic acetamiprid toxicity in Wistar rats». *Environ SciPollut Res.* 23(24):25191-25199.

- Chen HQ., Jin ZY., Wang XJ., Xu XM., Deng L., Zhao JW., 2008.** «Luteolin protects dopaminergic neurons from inflammation-induced injury through inhibition of microglial activation». *Neurosci. Lett.* 448 (2): 175-9.
- Chin-Chan M., Navarro-Yepes J., and Quintanilla-Vega B., 2015.** «Environmental pollutants as risk factors for neurodegenerative disorders: Alzheimer and Parkinson diseases». *Frontiers in Cellular Neuroscience.* 9 (124): 22.
- Christensen HL., Nguyen AT., Pedersen FD., Damkier HH., 2013.** «Na⁺ dependent acid-base transporters in the choroid plexus; insights from slc4 and slc9 gene deletion studies». *Front Physiol.* 4 : 304.
- Chuiko GM., Zhelnin YY., Gornaya PVA., 1997.** «Seasonal fluctuations in brain acetylcholinesterase activity and soluble protein content in roach (*Rutilus rutilus* L): a freshwater fish from Northwest Russia». *Comp. Biochem Physiol.* 107: 251-257.
- Colborn T., 2006.** «A case for revisiting the safety of pesticides: a closer look at neurodevelopment». *Environ Health Perspect.* 114 : 10-17.
- Collin B., 2003.** *Neurologie In : Anatomie du chien*, Editions Derouaux Ordina, Liege. pp : 391-502.
- Collins A., 1997.** «Comet assay in human biomonitoring studies: reliability, validation and applications». *Environ Mol Mutagen.* 30: 139-46.
- Costa L.G., Aschner., M., Vitalone., A., Syversen., T., and Soldin., O. P., 2004.** «Developmental neuropathology of environmental agents». *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 44: 87-110.
- Costa L.G., 2006.** «Current issues in organophosphate toxicology». *Clin Chim Acta.* 366: 1-13
- Couteux A., Lejeune V., 2006.** *Index Phytosanitaire ACTA.* Paris: Association de Coordination Technique Agricole.
- Cushnie TP., Hamilthoh VES., Lamb AJ., 2003.** «Assessment of the antimicrobial activity of selected flavonoids and consideration of discrepancies between previous reports. *Microbiol.* Res. 158(4): 281-9.

D

- Dagnogo M., Gouteux., J.P., 1983.** «Essai sur le terrain de différents insecticides contre *Glossina palpalis* (Robineau-Desvoidy) et *Glossina tachinoides* Westwood.1. Effet répulsif de OMS 1998, OMS 2002, OMS 200, OMS 18 et OMS 570 ». *Cahier ORSTOM, sér. Ent. Méd. Parasit.* 21 (1) : 29-34.

- Damien A., Justine B., Julian G., Didier G., Damien G., 2010.** « Estimation des expositions de la population générale aux insecticides » : les organochlorés et les pyréthrinoïdes. pp .75 :9-21.
- Dean F M., 1963.** Natural occurring Oxygen Ring Compounds. Ed Butterworth, Londres. pp: 123.
- Dias BG., Ressler KJ., 2014.** «Parental olfactory experience influences behavior and neural structure in subsequent generations. Nature Neuroscienc». 17(1) : 89-99.
- Di-Monte DA., Lavasani M., 2002.** « Environmental factors in Parkinson's disease. Neurotoxicology ». 23: 487-502.
- Djeffal A., 2014.** Evaluation de la toxicité d'un insecticide carbamate « méthomyl » chez le rat Wistar : Stress oxydant et exploration des effets protecteurs de la supplémentation en sélénium et/ou en vitamine C. These Doctorat Université Badji Mokhtar-Annaba. pp : 132.
- Djiteye A., Mooloo S.K., Foua B.K., 1998.** « Essai de lutte contre *Glossina palpalis gambiensis* (Vanderplank, 1949) à l'aide de pièges et d'écrans imprégnés de deltaméthrine en zone soudanienne au Mali revue Elev ». Méd. vét. Pays trop. 51 (1): 37-45.
- Dong Y., Wang J., Feng D., 2014.** «Protective Effect of QR against Oxidative Stress and Brain Edema in an Experimental Rat Model of Subarachnoid Hemorrhage». Inter Journal Med Sci .11(3): 282-290.
- Dubey N., Mehraj A., Rajinder K., 2013.** « Sub-acute Deltamethrin and Fluoride Toxicity Induced Hepatic Oxidative Stress and Biochemical Alterations». Particularly fish populations.28: 13-19.
- Dyce K.M., Sack W.O.et Wensing C.J.G., 1996.** The Nervous System In : Textbook of veterinary anatomy, 2nd edition, W.B. Saunders, Philadelphia .pp: 259-322.

E

- Eriksson P., Nilsson Hakansson L., Nordberg A., Aspberg A., Fredriksson A., 1990.** «Neonatal exposure to DDT and its fatty acid conjugate: effects on cholinergic and behavioral variables in the adult mouse».Neurotoxicology .11(2):345-354.
- Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jungens G., 1992.** «The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL». Free Radic Biol Med 13(4): 341-390.

EuroCom (European Commission), 2002 .«Review report for the active substance Deltamethrine: EC Health and consumer protection directorate general-E1 Plant health».EFSA journal. ? : 53.

F

Fan J., Watanabe T., 2003. «Transgenic rabbits as therapeutic protein bioreactors and human disease models». Pharmacol. Ther. 99 (3): 261-82. P 213-220.

Favier A., 2003. «Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique». L'actualité chimique. ? :108-115.

Ficarra R., Tommasini S., Raneri D., Calabrô ML., Di-Bella MR., Rustichelli C., Gamberini MC., Ficarra P., 2002. «Study of flavonoids/γ cyclodextrins inclusion complexes by NMR, FT-IR, DSC, X-ray investigation». Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 29?: 1005-1014.

Flohe., Gunzler.,1984 . « Analysis of glutathione peroxidase, Methods Enzymol».Basic life sciences.105: 114-121.

Flora SJ., Mittal M ., Mehta A., 2008. «Heavy metal induced oxidative stress and its possible reversal by chelation therapy». Indian Journal Med Res .128(4): 501-523.

Fontaine E., 2007. « Radicaux libres et vieillissement». Cah Nutr Diét. 42(2): 110-115.

Fox R., Manning P.J., Ringler D.H., Manning P.J., Man Ringler D.H., 1994. Taxonomy and genetics. The Biology of the Laboratory Rabbits. Ed Newcomer C.E. 2éme éd. San Diego: Academic. Press.PP: 1- 25.

Freeman BA., Crapo JD., 1981. « Hyperoxia increases oxygen radical production in rat lungs and lung mitochondria». J Biol Chem. 256(21): 10986-10992.

Fritch H., Griesbach H., 1975. «Biosynthesis of cyaniding in cell cultures of *Haplopappus gracilis*. Phytochem». ?.14(11): 2437-42.

Fuhrer L., Fanuel-Barret D., Moissonnier P .2007 . Neurologie du chien et du chat, Elsevier Masson, Issy-les-Moulineaux. Ed. Elsevier Masson. 326 p.

G

Gadoth N., Gobel H., 2011. «Oxidative Stress and Free Radical Damage in Neurology. Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice». Springer Science. 514?: 91-5.

- Gallo M. A., Lawryk N. J., 1991.** « Organic phosphorus pesticides. In Handbook of Pesticide Toxicology ». Academic Press, New York, NY. ? : 5-3.
- Galvez J., Crespo J., Jimenez J., Suarez A., Zarzuelo A., 1993.** «Antidiarrhoeic activity of quercetin in mice and rats». J. Pharmacol. 45: 157-9.
- Galvez J., Zarzuelo A., Crespo J., Lorene MD., Acete MA., Jimenez J., 1993.** «Antidiarrhoeic activity of Euphorbia hirta extract and isolation of an active flavonoid constituent». Planta Med.59: 333-6.
- Garait B., 2006.** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®. These Doctorat. University of Joseph Fourier - Grenoble 1. PP : 198pp.
- Gardès-Albert M., 2006.** «Stress oxydant: Aspects physico-chimiques des espèces réactives de l'oxygène». Ann Pharm Fr. 64: 365-372.
- Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z., Jore D., 2003.** «Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique? ». L'actualité chimique. ? : 91-95.
- Gasmi S., 2018.** Neurotoxicité de deux pesticides (Acetamipride et Deltamethrine) et la prévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat.Thèse Doctorat, Université de Tébessa. PP:217.
- Godoy JA., Lindsay C., Quintanilla RA., Carvajal FJ., Cerpa W., Inestrosa W.C., 2016.** «Quercetin Exerts Differential Neuroprotective Effects against H₂O₂ and a β Aggregates in Hippocampal Neurons: the Role of Mitochondria». Mol Neuro biol. 54(9):7116-7128.
- Goodarzi MT., Zal F., Malakooti M., Safari MR., Sadeghian S., 2006.** «Inhibitory activity of flavonoids on the lens aldose reductase of healthy and diabetic rats». Acta2006 Med. Iran .44(1): 41-5.
- Grandjean., et Pet Landrigan P.J., 2006.** «Developmental neurotoxicity of industrial chemicals». Lancet. 368: 2167-2178.
- Grojean S., Lièvre V., Koziel V., Vert P., Daval JL., 2001.** « Bilirubin exerts additional toxic effects in hypoxic cultured neurons from the developing rat brainby the recruitment of glutamate neurotoxicity». Pediatrie Research. 49: 507 - 513
- Guedri K., Frih H., Chettoum A., Rouabhi R., 2017.** « Chronic Restraint Stress Induced: Neurobehavioral Alterations and Histological Changes in Rat».Toxicologie et sciences de la santé environnementale. 9(2) : 123-129

Guéguen B., Chauvel P., Touchon J., 2005. Neurophysiologie des mémoires. Ed. Elsevier Masson. 240pp.

Guénard H., 2001. Physiologie humaine. 3ème Edition. Pradel. 606pp.

Guillaume J., Sarah S., Olivier Mh., 2010. «Combining naturally occurring polyphenols with TNF-related apoptosis-inducing ligand: a promising approach to kill resistant cancer cells? » Cellular and Molecular Life Sciences. 67 (18): 3115-30

Guler GO., Cakmak YS., Dagli Z., Aktumsek ., Ozparlak H ., 2010. «Organochlorine pesticide residues in wheat from Konya region, Turkey» Food and Chemical Toxicology. 48: 1218-1221.

H

Halliwell B., 2006. « Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? ». Journal of Neurochemistry. 97(6): 1634–1658.

Harborne JB., 1989. «Recent advances in chemical ecology». Nat. Prod. Rep. 25 (7): 85-109.

Hardy C., Casane D., Vigne J., Callou C., Dennebouy N., Mounolou J., Monnerot M. 1994. « Ancient DNA from Bronze Age bones of European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) ». *Experientia* . 50(6):564-570.

Hayes Jr., Wayland., Williams ., Wilkins Publishers., Baltimore, MD., 1982. Pesticides Studied in Man. Ed. Elsevier Masson SAS. 672pp:49-95

He F., Wang S., Liu L., Chen S., Zhang Z., Sun J., 1989. « Clinical manifestations and diagnosis of acute pyrethroid poisoning». *Arch Toxicol.* 63: 54-58.

He J., Liu Y., Fan M., and Liu X., 2012. « Isolation and Identification of the DNA Aptamer Target to Acetamidrid ». *Journal Agric Food Chem* .59: 1582-1586.

Herrero E., Ros J., Belli G. ., Cabiscol, E., 2008. « Redox control and oxidative stress in yeast cells ». *Biochimica and biophysica acta.* 1780 :1217-1235.

Herve J.J., 1982. «Le mode d'action des pyrèthrinoides et le problème de résistance à ces composés In : Deltaméthrine monographie. ». ROUSSEL-UCLAF. ? :67-107.

Hoyer D., Hannon J.P., Martin GR., 2002. « Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors ». *Pharma Biochem and Behavior.* 71: 533-554.

HSDB., 2001. «Deltamethrin. Hamilton : Centre canadien d'Hygiène et de Sécurité. Consultable. » sur le site. (301) :496-1131

I

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

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

IPCS., INCHEM., 1990. Deltamethrin.Environmental health criteria EHC 97.WHO. Consultable sur le site /<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc97.htm/>

J

J., Slotkin., T. A., and Levin., E. D., 2004. «Behavioral alterations in adolescent and adult rats caused by a brief subtoxic exposure to chlorpyrifos during neurulation».Neurotoxicol Teratol. 26 : 95-101.

Jean-françois V., Alain S., Marie-Claude .LR ., François B., 2005. « Neurophysiologie de la physiologie à l'exploration fonctionnell». Neuro. 1(1): 03-25.

Jocelien DA., Christiaan HV., Berend O., 2013. « The role of the serotonergic and GABA system intranlational approaches in drug discovery for anxiety disorders ». Front Pharmacol. 4: 74.

K

Karami-Mohajeri S., Abdollahi M., 2011. « Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates : a systematic review ». Hum. Exp. Toxicol. 30 :1119-1140.

Kazushige M. ,2000. « Chronic Stress Induces Impairment of Spatial Working Memory Because of Prefrontal Dopaminergic Dysfunction». Journal Neurosci .20: 1568-1574.

Kolb B., Whishaw IQ ., 2002. Cerveau et comportement. de boeck university. 672pp.

L

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

- Lauvverys R., Vincent H., Dominique L., 2007.** Toxicologie industrielle et intoxication professionnelles. Ed. Masson 31-288pp
- Leclerc PL., 2012** .Elaboration de nanoparticules de protéines de lactosérum comme système d'administration de quercétine en système gastro-intestinal. Thèse doctorat en Sciences et technologie des aliments (Ph.D.) Université Laval Québec.pp: 12(44) : 57-110.
- Lee J., Koo N., Min DB. 2004.** «Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutraceuticals». Food Science and Food Safety. 3: 21-33
- Lee Y., Bemstock JD., Nagaraja N., Ko B., Hallenbeck JM., 2016.** «Neuroprotection afforded by quercetin against the deleterious effects of oxygen/glucose deprivation and the restoration of oxygen/glucose». Journal of Neurochemistry. 38: 101-116.
- Liu GP., Shi N 2006.** « The inhibitory effects of Deltamethrin on dopamine biosynthesis in rat PC12 cells». Toxicology Letter .161: 195-199.
- Liu Y., Fiskum G., Schubert D., 2002.** «Generation of reactive oxygen species by the mitochondrial electron transport chain». Journal Neurochem .80: 780-787.
- Lodish H ., Berk A., Matsudaira P., Darnell J., Kaiser CA., Masson PL., 2005.** biologie moléculaire de la cellule. Masson. 3ème édition. de-boeck university. 1096pp.
- Lotti M., 1995.** «Cholinesterase inhibition: complexities in interpretation». Clin Chem. 41 (12): 1814-1 818.

M

- Magali Mongens ., 2013.** Origine et conséquences du stress oxydant, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort , 121 pp.
- Maghzal GJ., Krause KH., Roland SR., Jaquet V., 2012.** «Detection of reactive oxygen species derived from the family of NOX NADPH oxidases». Free Radical Biology and Medicine. 53: 1903-1918.
- Manouchehri MJ., Kalafatis M .,Lindner D., 2016.** « Evaluation of the efficacy of trail plus quercetin as a potential breast carcinoma therapeutic». AACR. 10 (1158): 1538-7445.
- Marian A., Wu Y., Lim D., Cluggage M., Youker K., Yu Q., Brugada R., Mayo F., Quinones M., Roberts R., 1999.** «Transgenic rabbit model for human hypertrophic cardiomyopathy». Invest. 12: 1683-92.

- Martínez-Cayuela M., 1995.** « Oxygen free radicals and human disease». *Biochimie*. 77: 147-161.
- Martin C., Riou B., Vallet B., 2006.** *Physiologie humaine appliquée*. Editions Arnette. pp 1098.
- Martini A., Katerere DR., Eloff JN., 2004.** « Seven flavonoïds with antibacterial activity isolated from *Combretum erythrophyllum*». *J. Ethnopharmacol.* 93. (2-3): 207-12.
- Meddleton E. et Kardasnamí J C., 1993.** The flavonoids *Advances*. In: research since 1986. J B Harborne, Chapman and Hall, London. pp: 617-652 .
- Medic Sanic M., Jasprica I., Smolcic Bubalo A., Mornar A. 2004.** « Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoides and phenolic acids ». *Croatica chemica acta*. ? : 361-366.
- Meiser J., Weindl D., Hiller K., Meiser J., 2013.** « Complexity of dopamine metabolism». *Cell Communication and Signaling*. 11:34.
- Meneses A., Perez-Garcia G., 2007.** « 5-HT1A receptors and memory». *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 31: 705-727.
- Merot P., Politzar H., Tamboura I., 1984.** « Résultats d'une campagne de lutte contre les glossines riveraines en Burkina par l'emploi d'écrans imprégnés de deltaméthrine». *Revue Elev Méd vét Pays trop*. 37 (2) :175-184.
- Mnif W., Hassine AI., Bouaziz A., Bartegi A., Thomas O., Roig, B., 2011.** «Effect of endocrine disruptor pesticides». *Int J Environ Res Public Health*. ? : 2265-2303.
- Mohajeri SA., 2011.** « Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates». *Hum Exp Toxicol*. 30(9):1119-1140.
- Montgomery, J. H., 1993.** *Environmental Data*. Ed. Agrochemicals Desk Reference. Lewis Publishers, Chelsea. pp ?.
- Mougel F., 1997.** Variations de trois types de marqueurs génétiques dans l'évolution de l'espèce (*Oryctolagus cuniculus*) : aspect moléculaires et relations avec la biologie et la structure des populations. Thèse de doctorat en Sciences biologiques et fondamentales appliquées. Psychologie à l'université de Paris 11. pp : 122.

Nicolas E., 2006. Etude de l'activité d'une formulation 1 à 50 de deltaméthrine sur *Stomoxys calcitrans* à la Réunion : résistance et rémanence .These Doctorat vétérinaire de l'université Paul-Sabatier de TOULOUSE. pp: 68.

Nieuwenhuys R. Voogd J et Huijzen CV., 2008. The human central nervous system. 4ème édition illustrée Springer. Pp: 967.

Nijveldt RJ., Nood VE., Van Hoom DE., Boelens PG., Van Norren K., Van Leeuwen PA., 2001. «Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications». American Journal of Clinical Nutrition. 74: 418-425.

O

Okello-Onen J., Heinonen R., Ssekitto C. M. B., 1994. « Control of tsetse flies in Uganda by dipping cattle in deltaméthrin». Trop Anim .Hlth Prod. 26: 21-27.

Okiria R., Kalunda M., 1994. « Knock down and survival of tsetse flies fed on cattle and pigs dipped in deltaméthrin». Ann Trop Med. Parasit. 88 (1): 77-81.

O'Mahony CM., Clarke G., Gibney S., Dinan TG., Cryan JF., 2011. «Strain differences in the neurochemical response to chronic restraint stress in the rat: relevance to depression». Pharmacol Biochem Behav 97: 690-699

Ouali K., Trea F., Toumi L., Bairi A., Maurel D., Guellati MA., 2007. « L'héspéridine, un antioxydant flavonoïde qui diminue le stress oxydatif et prévient les malformations fœtales au cours du diabète gestationnel expérimental». Phytothér. 5 (4): 204-9.

P

Pascal H., 2010. Le système nerveux. 2ème édition. pp : 44-62.

Pellerin L., Magistretti PJ., 1994. «Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis». Proc Nat Acad Sei. 91: 10625-10629.

Periquet A., Boisset M., Casse F., Catteau M., Lecerf J.M., Carole L., 2004. «Pesticides risques et sécurité alimentaire». Paris. ?:-?

Philbert MA., Billingsley ML., Reuhl KR., 2000. « Mechanisms of injury in the central nervous system».Toxicol Pathol. 28: 43-53.

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

Powers S.K., Smuder A.J., Kavazis A.N., Hudson M.B., 2010. « Experimental guidelines for studies designed to investigate the impact of antioxidant supplementation on exercise performance». *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* 20: 2-14.

Projet d'acceptabilité d'homologation continue. 2005. «Réévaluation de la phosalone». -02 : p. 16-30.

Pyabalo A.K., 2015. Action des pyréthrinoïdes sur le canal sodique active par le potentiel des neurones du système olfactif de l'abeille domestique *apis mellifera*. Thèse de doctorat de l'université d'avignon et des pays du vaucluse. pp : 188.

Q

Queney G., Ferrand N., Weiss S., Mougél F., Monnerot M. 2001. « Stationary distributions of microsatellite loci between divergent population groups of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*)». *Mol Biol.*18 (12) : p 2169-2178.

Quinton J., 2009. Atlas des nouveaux animaux de compagnies. Ed. Masson. pp : 43-44.

R

Rajapakse BN., Thiermann H., Eyer P., 2012. «Evaluation of the Test-mate CHE (cholinesterase) field kit in acute organophosphorus poisoning ». *Ann Emerg Med.* 58 :559-64.

Ramade F., 2002. Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement. 2ème édition. Edition Dunod. P: 822.

Raymond-Delpech V., Matsuda K., Sattelle BM., Rauh JJ., Sattelle DB., 2005. «Ion channels: molecular targets of neuroactive insecticides». *Invert Neurosci.* 5: 119-133.

Rjeibi I., 2016. «Oxidative damage and hepatotoxicity associated with deltamethrin in rats: The protective effects of *Amaranthus spinosus* seed extract». *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 84: 853 –860.

S

Sakao K., Fujii M., Hou DX., 2009. « Clarification of the role of quercetin hydroxyl groups in superoxide generation and cell apoptosis by chemical modification». *Biosci Biotechnol Biochem.* 73: 2048-2053.

Sarni-Manchado P., et Cheynier V., 2006. Les polyphénols en agroalimentaire, Ed. Lavoisier (Tec & Doc), Paris.pp: 300-398.

- Sashindran R., Balasundaram M., Jegathambigai R., Kumar P., 2015.** « Evaluation of Neuroprotective effect of Quercetin and coenzyme q10 in ethanol induced neurotoxicity in mice ». IJABPT.?: 67-71pp.
- Sauer E., 2014.** « Liver delta-aminolevulinate dehydratase activity is inhibited by neonicotinoids and restored by antioxidants agents». Int J Environ Res Public Health. 11(11):11676-90.
- Scassellati SG., Moretti M., Villarini M., Angeli G., Pasquini R., Monarca S., Scarselli R., Crea MG., Leonardis C., 1994.** «An evaluation of toxic and genotoxic risk from work-related exposure to chemical compounds». Prevenzione Oggi. 6: 125-138.
- Schleier III J.J., Peterson., 2012.** The joint toxicity of type I, II and non-ester.?.pp:?
- Sharma P., Firdous S., Singh R., 2014.** « Neurotoxic effect of cypermethrin and protective role of resveratrol in Wistar rats». Int J Nutr Pharmacol Neurol Dis. 4:104-11.
- Shivanoor SM., David M., 2014.** « Protective role of turmeric against deltamethrin induced renal oxidative damage in rats». Biomedicine & Preventive Nutrition. 4: 543-553.
- Slotkin, T. A., 2008.** « If nicotine is a developmental neurotoxicant in animal studies, dare we recommend nicotine replacement therapy in pregnant women and adolescents?» Neurotoxicol Teratol. 30: 1-19.
- Speck R., Penn M., Wimmer J., Esser U., Hague B., Kindt T., Atchison R., Goldsmith M., 1998.** « Rabbit cells expressing human CD4 and human CCR5 are highly permissive for human immunodeficiency virus type 1 infection». J. Virol. 72 (7): p 5728-5734.
- Spencer E.Y., 1981.** Guide to the chemicals Used in crop protection. 7th edition .publication 1093 .Research branch .Agriculture canada. pp: ?.

T

- Testud F., 2001.** Insecticides organophosphorés, carbamates anti-cholinestérasiques et pyréthrinoïdes de synthèse. Editors. Toxicologie humaine des produits phytosanitaires. Paris: ESKA. pp : 67-116.
- Testud F., et Grillet JP., 2007.** « Insecticides organophosphorés, carbamates, pyréthrinoïdes de synthèse et divers». EMC. Toxicologie-Pathologie Professionnelle. 16 :059-C-15.

- Thannickal VJ., et Fanburg BL., 2000.** « Reactive oxygen species in cell signaling». Am Journal Physiol Lung Cell Mol Physiol. 279: 1005-1028.
- Thomson, W.T., 1992.** Agricultural Chemical. Book 1: Insecticides. Thomson Publications, Fresno, CA. ? p.
- Tissier M. 2011.** Contribution à l'étude du stress oxydant chez le chien de cross canin. Thèse doctorat Méd. Vét de l'université claud-bernard - lyon I. pp : 180.
- Toumi H., 2013.** Ecotoxicité de la deltaméthrine et du malathion sur différentes souches de Daphnia magna. Thèse de Doctorat en cotutelle entre l'université de Lorraine et l'université de Carthage. 208p.
- Truchon G., Tardif R J., Drolet D., Levesque M., Boucher J., 2012.** «Guide technique T-03. Guide de surveillance biologique de l'exposition. Stratégie de prélèvement et interprétation des résultats». Québec : L'institut de recherche Robert- Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) .57 :12-36.
- Turner K, Lindner D and Kalafatis M (2016)** « Sensitization of malignant melanomas to TRAIL-induced apoptosis by quercetin». recherche sur le cancer.76 (14):1294-1294 10.1158/1538-7445.

U

- Uno K., Nicholls SJ., 2010.** «Biomarkers of inflammation and oxidative stress in atherosclerosis». Biomark Med. 4: 361-373.
- 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.5 (1): 9-14.

V

- Vamecq J., Vallée L., Storme L., Gelé P., Bordet R., 2004.** «Les acteurs immédiats du stress oxydatif : Key players in oxidative stress». La lettre de Pharmacologie.18(1) :11.
- Van Den Bossche, P., Duchateau L., 1998.** «The effect of deltamethrin pour-on applied to cattle on the transmission of bovine Trypanosomosis». Revue Elev. Méd. vét. Pays trop. 51 (2) : 123-126.
- Vergely C., Rochette L., 2005.** « Le stress oxydatif : Les radicaux libres, des composés à fonction biologique méconnue : à côté de leur action physiopathologique, ce sont des régulateurs avant d'être des destructeurs». Affections Métaboliques AMC pratique. 114: 28-30.

Verkhatsky A ., Butt A ., 2007. Glial neurobiology : atextbook, edition : illustrée, editeur : johnwiley and sons. 215pp.

Viviana VL., Angélica TB., Lina GM., Alejandro M., Marisol RL., 2015. «Acute restraint stress and corticosteronetransiently disrupts novelty preference in an object recognition task». Behav Brain Res. 291: 60-66.

W

Walther C., Gielen S., 2004. « Rainer the effect of exercise training on endothelial function in cardiovascular disease in humans». Exerc Sport SciRev.31(4):129-134

Wang XF., Li S., Chou AP., Bronstein JM., 2006. «Inhibitory effects of pesticides on proteasome activity: implication in Parkinson's disease». Neurobiol Dis. 23(1): 198-205.

Weissenbock H., Hainfellner J., Berger J., Kasper I., Budka H., 1997. «Naturally occurringherpes simplex encephalitis in a domestic rabbit (*Oryctolagusuniculus*) ». VetPathol. 34 (1): 44-47.

William P., 1981.Anatomie et physiologie in organisation générale et physiologie humain .2^{ième} éd .Tortora G .J. pp : 209-214.

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

Wilson A., 1987. «Flavonoids pigments in chalkhill blue (*Lysandra coridon* poda) and other lycaenid butterflies». J. Chem. Ecol. 13 (3): 473-493.

Wilson B., 2010. Cholinesterase, Section X: orgapnophosphorous insecticides. In: Handbook of pesticide toxicology. Third Edition. Robert Krieger. pp: 1457-1478.

Y

Yanni A., 2004. «The laboratory rabbit: an animal model of atherosclerosis research». Lab.Anim. 38 (3) : 246-256.

Z

Zahran WE., Elsonbaty SM., Moawed F.S.M., «Selenium nanoparticles with low-level ionizing radiation exposure ameliorate nicotine-induced inflammatory impairment in rat kidney». Environ SciPollut Res. 24(24):19980-19989.

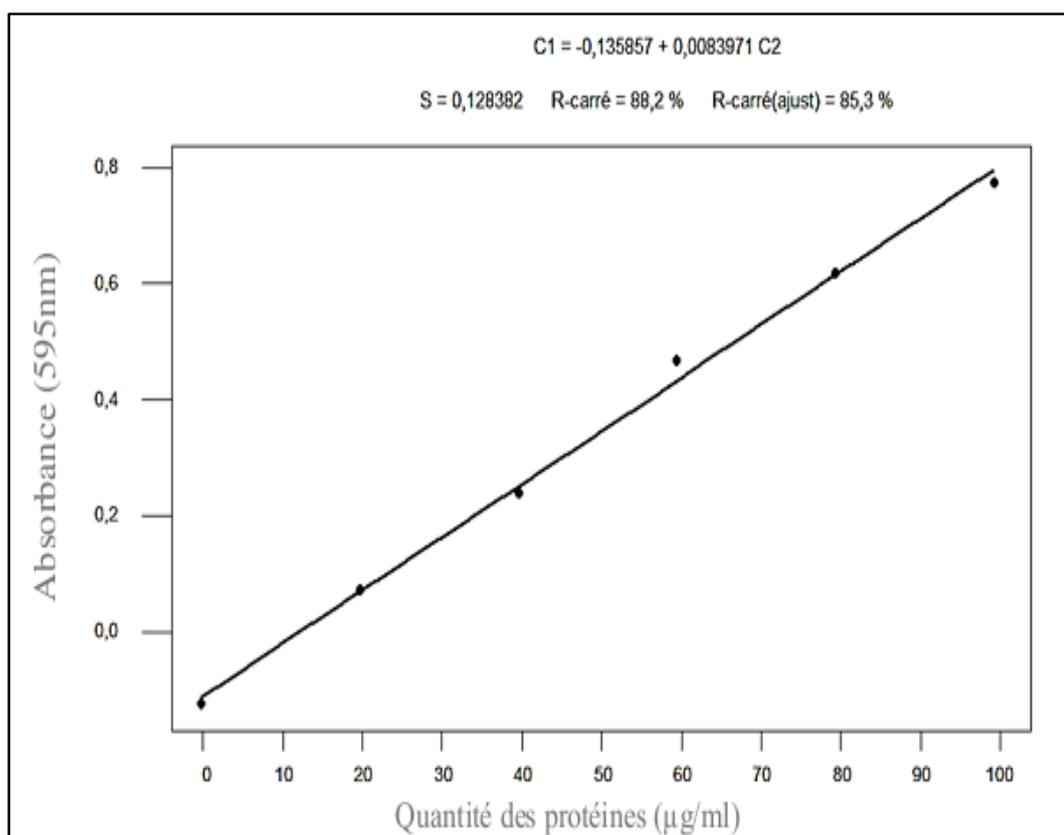
- Zou H., Li Y., Liu X., Wang X., 1999.** « An APAF-1 cytochrome c multimeric complex is a functional apoptosome that activates procaspase-9». *Journal Biol Chem.* 274(11): 549-562.

ANNEXES

ANNEXES

I. Courbe d'étalonnage pour dosage des protéines

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



Tableau/Figure. Réalisation de courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines

II. Tableau. Principales caractéristiques des pyréthriinoïdes de synthèse employés en agriculture en France (Testud F.2001)

Produit	Classe	Code	Dose (g/ha)	Délai (jours)	Délai (jours)	LD50 (g/kg)	LD50 (g/kg)
Acinathrine	II	Xn (u.h.)	> 5 000	3 à 5 semaines	3 à 21 jours	0,05 à 0,2	20
Alphaméthrine	II	T (-)	66 à plus de 5 000		3 jours à 1 mois	0,05 à 2	-
Bétacyfluthrine	II	T+ (classe II)	380 à 651	2 à 3 semaines	7 jours à 1 mois	0,02 à 20	10
Bifenthrine	I	T (classe II)	54,5	3 à 4 semaines	3 jours à 1 mois	0,05 à 10	20
Bioresméthrine	I	- (u.h.)	8 600 (340)		-	0,1	30
Cyfluthrine	II	T+ (classe II)	84 à 651 (5)	2 à 4 semaines	7 jours à 1 mois	0,02 à 20	200
Cyperméthrine	II	Xn (classe II)	251 (55)		3 jours à 1 mois	0,05 à 30	50
Deltaméthrine	II	T (classe II)	66,7 à 138,7 (2,3)	3 à 4 semaines	3 jours à 3 mois	0,02 à 5	10
Esfenvalérate	II	T (classe II)	88,5	2 à 4 semaines	3 à 35 jours	0,02 à 0,2	7
Lamda-cyhalothrine	II	T+ (classe II)	56 à 79	3 à 4 semaines	3 jours à 2 mois	0,02 à 10	20
Perméthrine	I	Xn (classe II)	1 500 à 4 000 (250)	15 à 20 jours	-	-	50
Tau-fluvalinate	II	Xn (u.h.)	282		3 jours à 3 mois	0,01 à 10	10
Téfluthrine	I	T (classe Ib)	22 à 35		-	0,02	-
Zétacyperméthrine	II	T (classe Ib)	86 à 134		7 jours à 2 mois	0,005 à 0,2	20

Classe Ib : *highly hazardous* ; classe II : *moderately hazardous* ; T+ : très toxique ; T : toxique ; Xn : nocif ; DJA : dose journalière admissible ; u.h. : *unlikely to present a acute hazard in normal use*.

III. Tableau. Principales caractéristiques des organophosphorés (OP) employés en agriculture en France (Couteux A, Lejeune.2006).

	Classement (OMS)	DL ₅₀ chez le rat par voie orale (mg/kg)	Caractéristiques particulières	Persistance d'action	Teneurs maximales en résidus (µg/kg)	DJA (µg/kg/jour)	VME (mg/m ³)
Azaméthiphos (S)	Xn (classe III)	1 180				25	–
Azinphos-méthyl	T+ (classe Ib)	16	Activation métabolique	15 jours	0,5 à 1	5	0,2
Cadusafos	T+ (classe Ib)	37	Rémanent ; activation métabolique		–	0,3	–
Chlorfenvinphos	T+ (classe Ib)	10 à 39	Inhibition préférentielle de la BuChE	2 à 3 semaines (feuilles) ; 2 à 4 mois (sol)	0,02 à 1	0,5	–
Chlorpyrifos-éthyl	T (classe II)	135 à 163	Très légèrement volatil ; activation métabolique ; inhibition préférentielle de la BuChE ; inhibition de la NTE	3 mois (sol)	0,05 à 3	10	0,2
Diazinon ou dimpylate	Xn (classe II)	300 à 850	Activation métabolique ; inhibition préférentielle de la BuChE	8 jours (feuilles)	0,02 à 1	2	0,1
Dichlorvos ou DDVP	T+ (classe Ib)	80	Volatil ; inhibition préférentielle de la BuChE ; inhibition de la NTE	4 à 5 jours	0,1 à 2	4	1
Diéthion	T (–)	208		3 à 4 semaines	0,05 à 3	2	0,4
Diméthoate (S)	Xn (classe II)	320 à 380	Hydrosoluble (25 g/l)	2 à 3 semaines	0,02 à 2	2	–
Ethoprophos	T+ (classe Ia)	62			0,01	0,3	–
Fénitrothion	Xn (classe II)	250 à 500	Activation métabolique ; stocké dans les graisses ; inhibition préférentielle de la BuChE	10 à 15 jours	0,01 à 2	5	–
Malathion	Xn (classe III)	480 à 1 150	Activation métabolique ; inhibition préférentielle de la BuChE ; inhibition de la NTE	8 jours	0,5 à 8	30	10
Méthamidophos (S)	T+ (classe Ib)	30	Très hydrosoluble (2 000 g/l) ; inhibition de la NTE	2 à 3 semaines	0,01 à 2	4	–
Méthidathion	T+ (classe Ib)	25 à 54		2 à 3 semaines	0,02 à 3	1	–
Naled (*)	Xn (classe II)	430			0,2	–	3
Oxydéméton-méthyl (S)	T (classe Ib)	65 à 80	Miscible avec l'eau		0,05 à 0,1	0,3	–
Parathion-éthyl (**)	T+ (classe Ia)	3,6 à 13	Activation métabolique ; inhibition préférentielle de l'AChE		0,05 à 0,5	4	0,1
Phosalone	T (classe II)	120	Rémanent ; activation métabolique	15 à 18 j	0,1 à 2	10	–
Phosmet	Xn (classe II)	230			0,1 à 10	10	–
Phoxime	Xn (classe II)	2170	Activation métabolique	3 mois (sol)	0,1	1	–
Pyrimiphos-méthyl (S)	Xn (classe III)	2050	Très légèrement volatil	Plusieurs mois (grains)	0,05 à 10	30	–
Téméphos ou abate (u.h.)	– (u.h.)	3100	Activation métabolique ; inhibition préférentielle de l'AChE (animal)		–	–	10

S : systémique ; * : retrait courant 2006 ; ** : plus commercialisé ; T : toxique ; T+ : très toxique ; Xn : nocif ; classe Ia : *extremely hazardous* ; classe Ib : *highly hazardous* ; classe II : *moderately hazardous* ; classe III : *slightly hazardous* ; u.h. : *unlikely to present acute hazard in normal use* ; AChE : acétylcholinestérase ; BuChE : butyrylcholinestérase ; DJA : dose journalière admissible ; NTE : *neuropathy target esterase* ; VME : valeur limite de moyenne d'exposition.