



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

Spécialité: TOXICOLOGIE



Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master LMD

Option: Xénobiotique et Risques Toxicologiques

Intitulée :

Effet protecteur de la quercétine contre la toxicité hépatique d'un pesticide deltaméthrine chez le lapin (*Oryctolagus cuniculus*)

Présenté et soutenu par :

Barka Baya

Nacer Djehane

Devant le jury :

MM .ZEGHIB A

MCB

Université de Tébessa

présidente

MM. SNOUSSI A

MAA

Université de Tébessa

Examinatrice

M. MENACEUR F

MCA

Université de Tébessa

Rapporteur

Date de soutenance: 27/05/ 2018





REMERCIEMENT

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

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

Nous adressons nos sincères remerciements à **Mme. Zeghib A** , pour l'honneur qu'elle nous fait de présider le jury de ce mémoire.

Nous tenons à remercier vivement, **Mme Snoussi A**, de nous faire l'honneur d'accepter d'examiner ce modeste travail.

Nous remercions **M. Rouabhi R**, professeur à l'université de Tébessa. et le doyen de l'institut des sciences.

Nous tenons à remercier vivement, **M. DJAHRA Ali Boutlelis**, doyen La faculté des sciences de la nature et la vie université Echahid hamma lakhdar – Eloued .

LISTE DES ABREVIATIONS

Liste des Abréviations

°C	Degré Celsius
A	Absorbance
AOH	Le Polyphénol
BBC	Bleu Brillant de Coumassie
BDMH	la base de données sur le métabolome humain
BHT	Hydroxytoluènebutylé
BSA	Sérum albumine bovine
CCHS	Canadian Community Health Survey - Statistics Canada
CDNB	Dinitrochlorobenzène
CYP450	Cytochromes P450
D	Deltaméthrine
DDT	le dichlorodiphényltrichlorethane
DJA	Dose journalière admissible
DL50	Dose mortel 50
DO	la densité optique
DTNB	Acide dithiobisnitrobenzoïque.
EDTA	Acide Ethylène Diamine Tétracétique)
GGPP	géranylgeranyl-pyrophosphate
GPx	Glutathion peroxidase
GSH	Glutathion réduit
GSSG	Glutathion oxyde
GTP	Guanosine triphosphate
H	Hydrogène
H ₂ O	Molécule d'eau
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène
HCH	hexachloro-cyclohexane
HPPD	L'unité d'hospitalisation programmée à durée déterminée
HCL	Acide chlorhydrique
HSDB	Banque de données sur les substances dangereuses (HSDB) - Toxnet - NIH
INSR	Institut national d'études de la Renaissance
Kg	Kilogramme
LDH	Lactate déshydrogénase
MDA	Acide Malon-dialdéhyde
MDH	Malate déshydrogénase
Mg	Milligramme
min	Minute
ml	Milliliter
mmol	Milimole
Na ₂ HPO ₄	Hydrogénophosphate de sodium
NaCl	Chlorure de sodium
NADH	Nicotinamide adénine dinucléotide H
NADPH	Nicotinamide-adénine dinucléotide-phosphate réduit.
NaOH	(0.1N
NaOH	Hydroxyde de sodium
nm	Nanomètre
OMS	organisation mondiale de la santé
OPS	Organophosphores
O ₂ ^{•-}	Superoxyde Anion
OH	Hydroxyl radical
PDS	pourcentage en poids

LISTE DES ABREVIATIONS

PH	Potentiel hydrogen
ROS	Reactive oxygene species
Q	Quercétine
SEC	Seconde
SSA	l'acide sulfosalicylique
SOD	superoxide dismutase
T	Témoin
T/Mn	tour par minute
TBA	L'acide thiobarbiturique
TBS	Tert-butyldiméthylsilyle
TBS	Tris-buffered saline
TCA	Trichloroacétique.
TCAH	Texas Connections Academy @ Houston
Tris	trihydroxyméthylaminométhane
WHO	worldHealthOrganization
μ l	microlitre
μmol	Micromoles

LISTE DES FIGURES

Liste des figures

N°	Titre de figure	p
01	Schématisation des modes de pénétration et du devenir des pesticides dans l'organisme	05
02	Structures de quatorze pyréthriinoïdes	08
03	Formule chimique de Deltaméthrine	10
04	Principales classes de flavonoids	14
05	Squelette de base des flavonoids	15
06	La biosynthèse des flavonoids	16
07	Structure chimique de quercetine	17
08	le lapin de garenne	21
09	Alimentation du lapin	22
10	Foie de lapin	25
11	Activité principale des polyphénols : le piégeage de radicaux libres. Le polyphénol (AOH) cède un atome H aux radicaux libres. Sa forme oxydée (AO°) est stabilisée ensuite par résonance ou dimérisation	30
12	Les lapins de garenne	33
13	L'élevage du lapin	34
14	Schéma du protocole expérimental	36
15	Mécanisme réactionnel de l'MDA	37
16	Mécanisme réactionnel du GSH	38
17	Variation de protéines tissulaires dans le foie chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux	42
18	Variation de la Malondialdéhyde (MDA) dans le foie chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux	43
19	Variation de la concentration du glutathion (GSH) dans le foie chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux	44
20	Variation de la Glutathion peroxydase (GPx) dans le foie -chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux	45
21	L'homéostasie est un équilibre entre les niveaux de radicaux libres (RL) et les antioxydants (AOX)	49

LISTE DES TABLEAUX

Liste des tableaux

N°	Titre de tableau	P
01	Croisements entre la classification chimique et la classification biologiques des pesticides	04
02	Les deux classes des Pyréthriinoïdes	09
03	La propriétés physiques de deltaméthrine	09
04	Propriétés chimiques et physiques de la quercétine	17
05	Classification du lapin	23
06	Poids initial, gain du poids et poids relatif des organes chez le groupetémoin et les groupes expérimentaux	41

SOMMAIRE

Listes des figures

listes des tableaux

Listes des abréviations

Introduction

PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I: les pesticides

I.1.1. Définition des pesticides	02
I.1.2. classification et Types des pesticides	02
I.1.3. Devenir des pesticides	05
I.1.4. Mode d'action des pesticides	05
I.1.5 .Toxicité des pesticides	06
I.1.6. Les facteurs influençant la toxicité des pesticides	07
I.2. Les pyréthriinoïde	07
I.2.1 Généralités	07
I.2.2. Classification	08
I.2.3. Exemple sur les pyréthriinoïdes : la deltaméthrine	09
• Composition	09
• Utilisation	10
• Toxicité de la deltaméthrine	11

Chapitre II: La quercétine

II.1. Les flavonoïdes	14
II.1.1. Généralités	14
II.1.2. Biosynthèse des flavonoïdes	15
II.2. La quercétine	17
II.2.1. Propriétés de la quercétine	17
II.2.2. Mode d'action de la quercétine	18

SOMMAIRE

II.1.3. Effets de la quercétine sur l'organisme (Antioxydant, antibactérien , anti-cancer...)	19
--	----

Chapitre III : LE LAPIN (*Oryctolagus cuniculus*)

III.1 Généralités	21
III.2. Classification zoologique	23
III.3. Biologie et reproduction	23
III.4. Physiologie du système hépatique	24

Chapitre IV: stress oxydatif

IV.1. définition	28
IV.2. radicaux libres	28
IV.3. le antioxydant	28
IV.4. le antéoxydant enzymatique	29
IV.5. le antéoxydant non enzymatique	30

DEUXIEME PARTIE : PARTIE PRATIQUE

Chapitre I : Matériel et Méthodes

I. Matériel	33
I.1.1. Matériel biologique	33
I.1.2. Produits chimiques	33
II. Méthodologie	34
I.2.1. Méthodes d'élevage :	34
I.2.2. Mode de traitement	34
• Sacrifice et prélèvement des organes	35
II .1. Méthodes de dosage des paramètres biochimiques	37
• Dosage des protéines	37
II .2. Méthodes de dosage des paramètres de stress oxydatif	37
• Dosage de malodialdialdéhyde (MDA)	37
• Dosage de glutathion hépatique (GSH)	38

SOMMAIRE

- Dosage de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) **39**

II. Résultats

- II.1.Effets de pesticide(Deltaméthrine) et la quercétine sur les paramètres de la croissance (Poids relative - Gain de poids) **41**

- II.2.Effets de pesticides(Deltaméthrine) et la quercétine sur les paramètres biochimiques **42**

- II.3.Effet de pesticide (Deltaméthrine) et la quercétine sur les paramètres tissulaires du stress oxydatif dans le foie . **43**

III .Discussion

- 1.Effets de pesticide(Deltaméthrine) et la quercétine sur les paramètres de la croissance (Poids relative - Gain de poids) **48**

- 2.Effets de pesticides(Deltaméthrine) et la quercétine sur les paramètres biochimiques **48**

- 3.Effet de pesticide (Deltaméthrine) et la quercétine sur les paramètres tissulaires du stress oxydatif dans le foie . **49**

Conclusion

Références

Annexes

Résumé

Partie I :
Synthèse bibliographique

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Introduction

La pollution est une dégradation de l'environnement par l'introduction dans l'air, l'eau ou le sol des matières n'étant pas présentes naturellement dans le milieu (**Hill, 2010**). Elle entraîne une perturbation de l'écosystème dont les conséquences peuvent affecter la qualité globale de la vie ou contribuer considérablement à l'asthme, allergie, intoxication alimentaire, certains cancers, la neurotoxicité et à l'immunosuppression (**Leguay, 1999**) la cause principale de cette phénomène la révolution industrielle et le développement technologique dans le domaine de l'agriculture.

Les pesticides sont des composés chimiques dotés de propriétés toxicologiques, utilisés par les agriculteurs pour lutter contre les animaux ou les plantes jugés nuisibles aux plantations, ces substances sont considérés comme la troisième cause de pollution dans le monde (**Multinger, 2005**). L'usage des pesticides a considérablement augmenté au cours des dernières décennies créant un danger croissant pour la santé des populations, puisque même une exposition de faible intensité a un risque à long terme qui est plus difficile à apprécier, ceci sans parler des effets à court terme qui sont de mieux en mieux connus (effets neurologiques, cancers, malformations congénitales, système immunitaire affaibli et troubles de la reproduction) (**Baldi et al., 1996 ; Tron et al., 2001**).

Des études récentes indiquent que l'exposition aux pesticides produit le stress oxydant par la génération des radicaux libres et induit la peroxydation lipidique dans les tissus des mammifères et des autres organismes (**Mishra, 2013**). Le stress oxydatif est le résultat de déséquilibre entre les oxydants (malonl dialdéhyde (MDA), les hydro peroxydes (ROOH), les protéines carbonylées), et les antioxydants (qui neutralisent ROS tels que la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase, le glutathion réduit, (**Badraoui et al., 2007**)).

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

La toxicité de pesticide proposer par occasion des essais préventif de la quercétine contre effet délétères de ce pesticides .

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

- Quel est l'effet toxique de deltaméthrine sur le système hépatique chez les lapin ?
- Est-ce qu'il y'a un effet correcteur de la quercitine sur l'hépatotoxicité chez le lapin?

CHAPITRE I :

LES PESTICIDES

Chapitre I: Les pesticides

I.1.Définition:

Les pesticides sont des produits destinés à lutter contre les organismes nuisibles, en particulier les mauvaises herbes, les animaux ou les maladies (**Dgs, 2005 ; IFEN., 2006**).

D'un point de vue réglementaire, on distingue ceux utilisés pour la protection des végétaux, appelés produits phytosanitaires ou phytopharmaceutiques, de ceux utilisés pour préserver la santé humaine et animale, appelés biocides. Ainsi, un insecticide sera considéré comme un produit phytosanitaire s'il est utilisé sur du blé, mais comme un biocide s'il est utilisé sur du bois de charpente (**IFEN ,2006**).

I.2.classification et types des pesticides :

Le premier système de classification repose sur le type de parasites à contrôler .

Il existe principalement grandes familles de **produits phytosanitaires** .

selon la nature des cibles visées :

*les herbicides:

Les herbicides sont des produits qui employés pour lutter contre les adventices, ou mauvaises herbes, destinées à détruire ou à limiter la croissance des végétaux, qu'ils soient herbacés ou ligneux.

* Les fongicides :

Un fongicide est un produit phytosanitaire conçu exclusivement pour tuer ou limiter le développement des champignons parasites des végétaux. Les produits à usages médicaux sont dénommés des antimycosiques.

* Les insecticides:

Environ 75% des espèces animales dans le monde sont des insectes, certaines sont des prédateurs bénéfiques ou des pollinisateurs, mais beaucoup sont des ravageurs (**Duffus et Worrth, 2006**). Un insecticide est un poison ou une substance toxique qui tue les insectes (**Nollet et Rathore, 2010**), et qui peuvent être classés en huit groupes chimiques dont les cinq suivants sont les plus importants :

- Composés organophosphorés (OP)
- Carbamates (par exemple Aldicarb)

- Les hydrocarbures chlorés, qui comprennent le dichloro diphényl trichloréthane (DDT et ses analogues).
- Urées substituées (par exemple diflubenzuron)
- Les pyréthroïdes, à la fois naturels (le pyréthrine II), ou structure synthétique (la déltaméthrine) (**Moffat, 2011**).

D'autres familles, moins fréquentes, peuvent également être répertoriées :

- * Les rodenticides, contre les rongeurs .
- * Les raticides, contre les rats.
- * Les germicides, contre la germination des graines.
- * Les molluscicides, contre les mollusques.
- * Les nématocides, contre les nématodes (ou vers ronds) (**Nicol, 2012**) .

Le deuxième système repose sur la nature chimique et fonction de leur substance active majoritaire qui compose les produits phytosanitaires. Les principaux groupes chimiques comprennent les organochlorés (DDT, chlordane, lindane,...etc.), les organophosphorés (malathion, parathion), les carbamates (aldicarbe, carbofuran, Carbaryl... etc.), les pyréthrinoïdes, (**Merhi, 2008; Nicol, 2012**) .

Tableau 01: Croisements entre la classification chimique et la classification biologiques des pesticides (Calvet, 2005).

<i>Groupe</i>	<i>Classe chimique</i>	<i>Exemples de molécules</i>
Antiparasitaires (insecticides et anticoccidiens)	Insecticides minéraux	Arséniate de plomb, fluorure d'aluminium, composés soufrés, mercuriques, séléniés
	Organochlorés	DDT (dichlorodiphényl trichloréthane) HCH (hexachloro-cyclohexane) dont le lindane
	Organophosphorés	Dichlorvos, chlorfenvinphos, phorate
	Carbamates	Aldicarbe, carbofuran, carbaryl, benfuracarbe,
	Pyréthriinoïdes	Perméthrine, cyperméthrine, deltaméthrine .
	Macrolides endectocides	Ivermectine, doramectine, abamectine, moxidectine, sélénamectine, éprinomictine
Herbicides	Herbicides minéraux	Sulfates, nitrates, chlorures, chlorates, cyanamide
	Phytohormones	Pichloranne, trichlopyr, fluroxypyr, glyphosate,
	Carbamates	Asulame, diallate, sulfallate
	Dérivés de l'urée	Monuron, diuron, linuron
	Divers	Triazines, dinitrophénols, aminotriazole,
Fongicides	Dithiocarbamates	Mancozèbe, manèbe, zinèbe, propinèbe,
	Carbamates benzimidazolés	Bénomyl, carbendazime
	Dérivés de l'imidazole	Kétoconazole, niconazole, imazalil, prochloraz

I.3. Devenir des pesticides dans l'organisme :

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

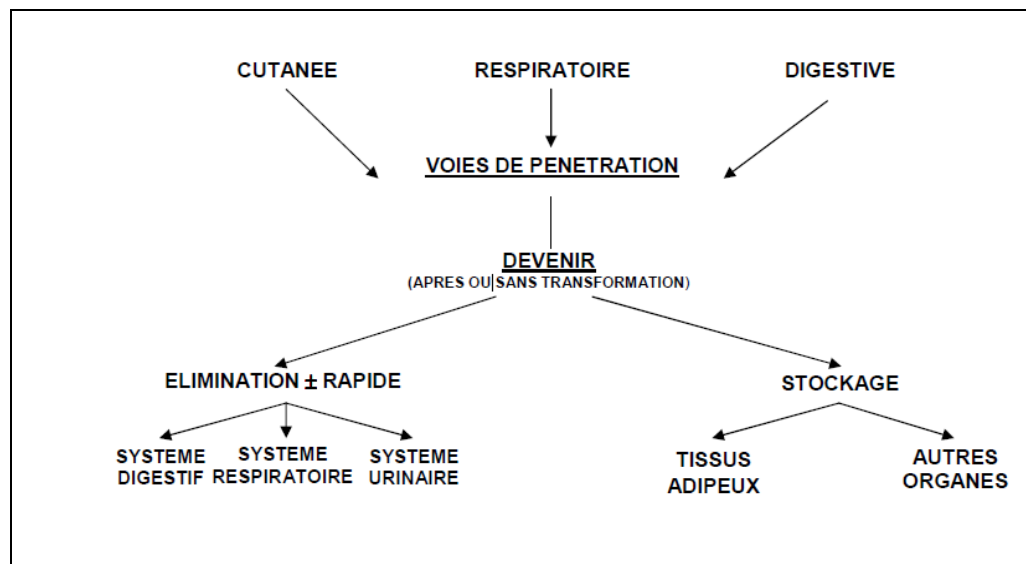


Figure 01:Schématisation des modes de pénétration et du devenir des pesticides dans l'organisme .

I.4 . Mode d'action des pesticides :

• Action sur les voie métaboliques

Bon nombre de voies métaboliques des organismes animaux et végétaux peuvent constituer des cibles pour de nombreuses substances phytosanitaires qui perturberont l'ensemble des métabolismes glucidique, lipidique et protéique (Alain et al., 2004); La plupart de ces molécules inhibent des enzymes qui sont les clés de voûte des voies métaboliques qu'elles contrôlent ; glycolyse, cycle de Krebs et cycle des acides tricarboxyliques, voies des pentoses, métabolisme des acides gras et des acides aminés.

Manèbe, le zinèbe, le nabame, le mancozèbe, le propinèbe, agissent comme agents thiol prives en se fixant sur les groupements SH (thiols) des acides aminés du site actif de nombreuses enzymes rendues ainsi inactives. Un mécanisme similaire peut être évoqué à propos des fongicides à base de soufre (thio et dithio carbamates) qui créent des ponts disulfures (S-S) entre les molécules organiques qu'ils inactivent ; ainsile métabolisme des champignons est perturbé à trois niveaux: voies d'oxydation du glucose, dégradation des acides gras et synthèse des acides nucléiques.

Concernant le métabolisme des lipides chez les végétaux, certaines substances peuvent inhiber les processus de biosynthèse des acides gras, triglycérides, phospholipides et lipides complexes en intervenant sur diverses enzymes. Ainsi, l'ACCCaseH est bloquée par les arylphénoxy-

propionates ou par les cyclohexanones ; les élongases qui permettent la formation des acides gras à longue chaîne sont bloquées par les benzofuranes ; les di et triallates et le TCAH; les enzymes de cyclisation du GGPP sont inhibées par les acétamides (chloro étoxy-) et par les thiocarbamates. Certains fongicides affectent le métabolisme lipidique en agissant sur la biosynthèse de stérols notamment sur certaines isomérases (spirocéta lamines, morpholines, pypéridines) ou déméthylases (formamides, amidazoles, triazoles, pyridines).

Le métabolisme protéique peut également être concerné, comme lors de l'inhibition de la synthèse de certains acides aminés par des herbicides, c'est le cas de la glutamine et des acides aminés aromatiques dont la synthèse est bloquée par les aminophosphonates et le glyphosate, et celle des acides aminés ramifiés bloquée par les imidazolinones, les sulfonylurées et les triazolopyridines.

On peut aussi mentionner dans cette rubrique l'action de certaines substances sur des voies métaboliques plus spécifiques comme la synthèse des caroténoïdes empêchée par l'inhibition de la PDS due à des furanones, pyridazinones et pyridinones ou de la 4 HPPD due aux isoxazoles et tricétones ou comme la biosynthèse des mélanines bloquée par les triazines (**Alain et al, 2004**)

Ces produits bloquent ou perturbent les voies métaboliques qui permettent aux organismes de fabriquer des molécules ayant des rôles énergétiques, structuraux ou informatifs, dont l'organisme ne saurait être privé sans dépérir.

1.5 .Toxicité des pesticides:

L'intoxication aux pesticides est une cause importante de morbidité et de mortalité à travers le monde (**Achour et al, 2011**). La toxicité des pesticides dépend d'un certain nombre de facteurs parmi lesquels on cite les forme d'utilisation (gaz, liquide, poudre ou solide), les moyens d'application et d'emploi (pulvérisation, dispersion, etc) et les conditions d'utilisation. Mais le facteur principal qui conditionne la toxicité de ces produits concerne le mode de pénétration et le devenir du produit dans l'organisme (**Braquenier, 2009**).

• Toxicité aiguë :

En population générale, les effets aigus des pesticides, faisant suite à une exposition à de fortes doses, s'observent rarement. Ils surviennent en cas d'empoisonnements accidentels (jardiniers amateurs, accidents chez des enfants) ou volontaires (suicides) (**Camard et Magdelaine, 2010**). Une des principales raisons pour lesquelles ces substances insecticides sont plus toxiques pour les insectes que chez les mammifères adultes, dont l'Homme, provient des capacités métaboliques de chacune et des voies de métabolisation. En effet, les insectes possèdent comme voie majeure de métabolisation celle de la bio activation, dans laquelle les ROS sont transformés en

oxon, leur métabolite actif. Au contraire, les mammifères privilégient les voies de détoxification directes et ont une voie de détoxification des oxon bien.

• **Toxicité chronique :**

La toxicité chronique est, quant à elle, nettement moins bien connue et beaucoup plus difficile à mettre en évidence. Elle peut être associée à une absorption de faibles quantités de pesticides présents dans différents milieux sur une longue période de temps. Elle peut provoquer différents problèmes de santé : cancers, problèmes de reproduction et de développement, affaiblissement du système (Karami et al, 2011).

I.6. Les facteurs influençant la efficacité des pesticides :

- * Les modalités de l'exposition.
- * Le temps pendant lequel la personne est exposée.
- * Le degré d'absorption.
- * La nature des effets de la matière active et de ses métabolites.
- * L'accumulation et la persistance du produit dans l'organisme (Berrah, 2011).

I.2. Les pyréthrinoides

I.2.1. Généralités

Les pyréthrinoides sont les analogues synthétiques des pyréthrines, qui sont des substances chimiques naturelles présentes dans les fleurs de chrysanthème. Les pyréthrinoides synthétiques ont une structure et une action similaires aux pyréthrines naturelles mais, contrairement à elles, ils présentent l'avantage d'être stables à la lumière tout en gardant un pouvoir insecticide, une action plus sélective sur certaines espèces et une faible toxicité pour les mammifères. Leur apparition remonte aux années 1970, c'est-à-dire après l'interdiction des pesticides organochlorés et organophosphorés, qui s'accumulaient dans l'environnement et l'organisme humain (Fréry et al, 2013).

Les pyréthrinoides, constituent aujourd'hui la famille d'insecticides la plus utilisée. Ils sont utilisés contre une grande variété d'insectes en agriculture, horticulture, dans le domaine forestier, en santé publique (dans les hôpitaux) et dans les résidences. Les pyréthrinoides les plus connus et utilisés commercialement sont la perméthrine, la cyperméthrine, la cyfluthrine, **la deltaméthrine** et le fenvalérate ; Ils se retrouvent dans l'environnement essentiellement en raison de leur usage comme insecticides. Dans l'air, ils sont rapidement détruits par le soleil (1-2 jours). Ils sont fixés fortement aux sols et peuvent être dégradés par les organismes présents dans le sol et l'eau.

Si, en général, ils sont relativement peu toxiques pour les mammifères, les pyréthroïdes sont des insecticides de synthèse très toxiques pour les organismes aquatiques et les animaux à sang froid. La plus faible toxicité chez les mammifères s'explique par une faible absorption par la peau et une transformation rapide dans l'organisme (Bouvier,2005).

I.2.2. Classification

La famille des pyréthrinoïdes compte près d'un millier de molécules réparties en deux groupe selon la molécule possède (type II) ou non (type I) un groupement cyanure (Figure 2) parmi les 14 molécules les plus couramment utilisées on peut citer la perméthrine la cyperméthrine et la **deltaméthrine** ils plusieurs isomères (2-8) chacun des principaux composés présents sur le marché les mélange commerciaux sont généralement composés présents d'un mélange de ces différents isomères qui présentent des propriétés insecticides et toxicologiques différentes (Fréry et al,2013).

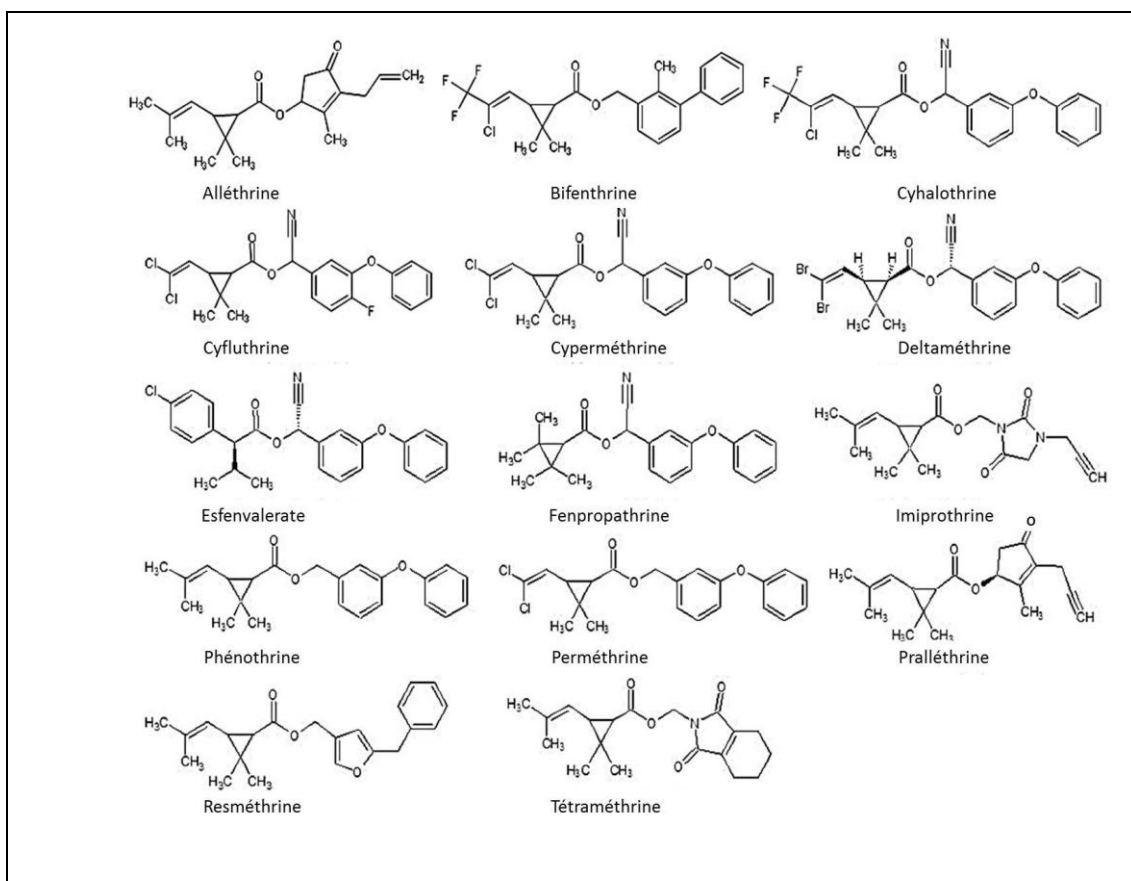


Figure 02: Structures de quatorze pyréthrinoïdes (selon Morgan ,2012)

Tableau 02: les deux classes des Pyréthrinoïdes

Pyréthrines naturelles	Pyréthriinoïdes de type I	Pyréthriinoïdes de type II
Pyréthrine I Pyréthrine II Cinerine I Cinerine II Jasmoline I Jasmoline II	Alléthrine Bifenthrine Perméthrine Phénothrine Resméthrine Sumithrine Téfluthrine Tétraméthrine	Cyfluthrine Cyhalothrine Cyperméthrine Deltaméthrine Fenvalérate Fluméthrine Fluvalinate Tralométhrine

1.2.3. Exemple sur les pyréthriinoïdes: la Deltaméthrine

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

- **Composition:**

La deltaméthrine est un solide blanc inodore, Elle est presque insoluble dans l'eau (0,2 µg/l à 25°C) et soluble dans de nombreux solvants organiques notamment l'acétone, le 1,2-dichloroéthane, le diméthylsulfoxyde, l'acétate d'éthyle et le xylène (Bavouzet *al.*, 2007).

Tableau 03 : La propriétés physiques de deltaméthrine (INSR, 2007; Shivanoor., David,2014)

Nom substance	Détails
Deltaméthrine	Formule chimique $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$ Masse molaire 505,20 g/mole Point de fusion 90 °C Point d'ébullition se décompose à partir de 270°C Solubilité dans l'eau ≤0.0002 mg/l à 25°C Etat physique Cristaux blancs (solide) Densité 0.5

* Propriétés chimiques

Formule chimique: [1R-[1α(S*),3α]-cyano(3-phénoxyphényl)méthyl 3-(2,2- dibromoéthényl)-2,2-diméthylcyclopropanecarboxylate.

La stabilité thermique de la deltaméthrine est bonne. Sous l'effet de rayonnements lumineux (en particulier l'irradiation solaire), la deltaméthrine se dégrade.

Les fonctions présentes sur la molécule de deltaméthrine (halogène, double liaison, fonction ester, groupe nitrile) constituent autant de points d'attaque possibles de la structure par des réactifs variés.

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

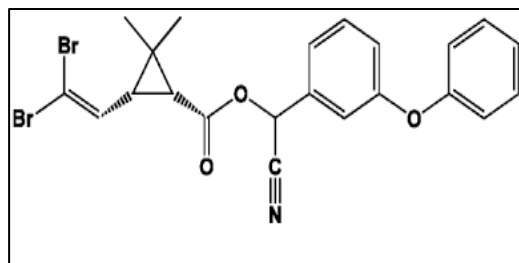


Figure 03: Formule chimique de deltaméthrine (INRS, 2007)

• **Utilisation:** selon (INSR, 2016)

La deltaméthrine intervient comme matière active (famille des pyréthriinoïdes) pour la préparation d'insecticides à usages agricole, vétérinaire et ménager. En France, les cultures traitées à la deltaméthrine sont principalement :

- ✓ les céréales .
- ✓ la vigne .
- ✓ l'arboriculture .
- ✓ les cultures légumières .
- ✓ la pomme de terre.

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

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

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

* **toxicité de deltaméthrine:**

Cet insecticide est pratiquement sans danger pour les mammifères avec une DL50 pour le rat par ingestion de 135 à plus de 5 000 mg/kg (Tomlin, 2000). Depuis plus de 20 ans, la deltaméthrine est recommandée pour lutter contre les stades adultes des moustiques.

a)- Toxicité aiguë:

La toxicité de la deltaméthrine par voie orale dépend du solvant utilisé : elle est en effet plus toxique lorsqu'elle est administrée dans un solvant huileux ou organique

que dans un solvant aqueux probablement en raison de sa faible absorption dans ces conditions (CCHS,2001;WHO,1990).

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

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

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

Après administration intraveineuse de 3 mg/kg chez le chien anesthésié, il a été mis en évidence des effets cardio-vasculaires tels que chute de la tension artérielle,

bradycardie sinusale, troubles de la conduction supra ventriculaire, troubles de la repolarisation et troubles de l'excitabilité auriculaire.

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

plupart des préparations.

Des effets irritants cutanés de la deltaméthrine ont pu être rapportés dans certaines études chez le cobaye et le lapin ; ils sont cependant d'intensité modérée et réversibles en quelques jours. Les résultats de ces tests dépendent fortement de la proportion de solvants organiques et d'émulsifiants dans le produit (WHO, 1990; EC, 2002; EPA, 1998).

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

b)-Toxicité subchronique, chronique:

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

CHAPITRE II:
LA QUERCETINE

Chapitre II : la quercétine

II.1. Les Flavonoïdes

II.1.1. Généralité:

Le terme "flavonoïdes" proviendrait de "flavedo", qui désigne la couche externe des écorces d'oranges. On appelle flavonoïdes des composés polyphénoliques présents dans de nombreux organismes (végétaux, fruits et légumes), que ce soit au niveau de leurs feuilles, de leurs tiges, de leurs fleurs, de leurs fruits ou du pollen. Il s'agit de pigments colorés qui confèrent à ces organismes la large palette de couleurs qu'ils empruntent. Ils les protègent principalement de l'oxydation et des rayons solaires agressifs. Les flavonoïdes participent également à donner du goût aux fruits et aux légumes. On en compte près de 4000 variétés regroupées en quatre groupes :

- la quercétine (oignon, brocoli...)
- les flavonones (citron)
- les catéchines (thé, vin rouge)
- les anthocyanines (fruits rouges, raisin...).

Les flavonoïdes ont été prioritairement mis en évidence par le vin rouge, avec le célèbre "french paradox", c'est-à-dire la faible mortalité notoire chez les habitants des régions méditerranéennes, dont le régime alimentaire serait essentiellement basé sur une consommation de vin rouge et de graisses saturées (LABORATOIRES YVES PONROY)

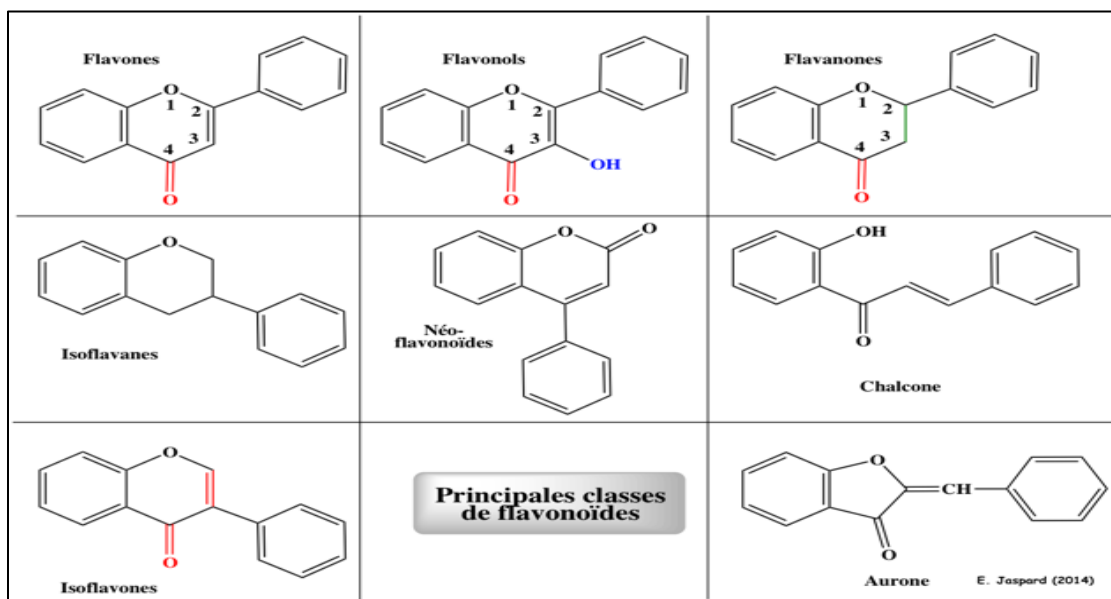


Figure 04: Principales classes de flavonoïdes

II.1.2. La biosynthèse des flavonoïdes:

De nos jours, plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés. Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C₆ (A et B), reliés par une chaîne en C₃ (Bruneton, 1999).

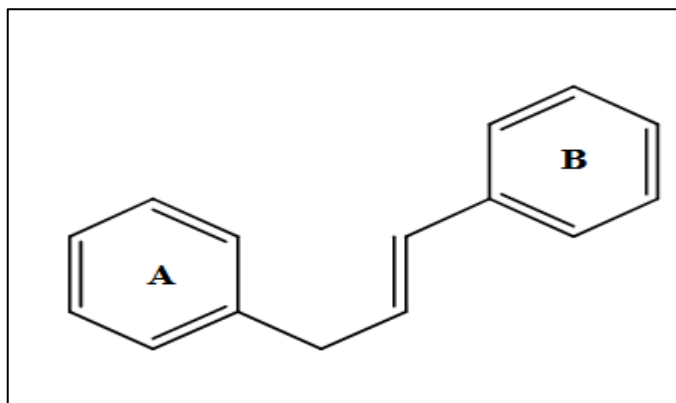


Figure05 :Squelette de base des flavonoïdes.

Leur biosynthèse (Figure 06) se fait à partir d'un précurseur commun, la 4,2',4',6'-tétrahydroxy chalcone. Cette chalcone de couleur jaune est métabolisée sous l'action d'enzyme, la chalcone isomérase, en flavanone (1) : naringénine. C'est sur cette dernière qu'agit ensuite la flavone synthase ou la (2S)-flavanone-3-hydroxylase pour donner la formation de la flavone (2) : apigénine ou le dihydro flavonol (3) : (2R, 3R) dihydro kaemp férol, respectivement. Les deux enzymes fonctionnent différemment, la première introduit la double liaison entre les carbones C-2 et C-3, tandis que la deuxième catalyse l'hydroxylation du carbone C-3. Le dihydro flavonol, en présence de la flavonol synthase ou la dihydro flavonol-4-réductase, se métabolise en flavonol (4) : kaemp férol ou en flavan-3,4-diol (5) : leuco anthocyanidol, respectivement. Ce dernier semble être le précurseur des flavan-3-ols (6) et anthocyanidols (7) (Figure). Cependant, les étapes ultimes de leur formation ne sont pas encore élucidées. Le pélagonidol (7), sous l'action de la 3-O-glycosyltransférase, se transforme en anthocyanoside (8) : pélagonidol-3-glucoside (Figure3). Les composés de chaque sous-classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles et autres) sur les deux cycles aromatiques A et B et la chaîne en C₃ intermédiaire. A l'état naturel, on trouve très souvent les flavonoïdes sous forme de glycosides. Une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylées. La partie du flavonoïde autre que le sucre est appelée aglycone.

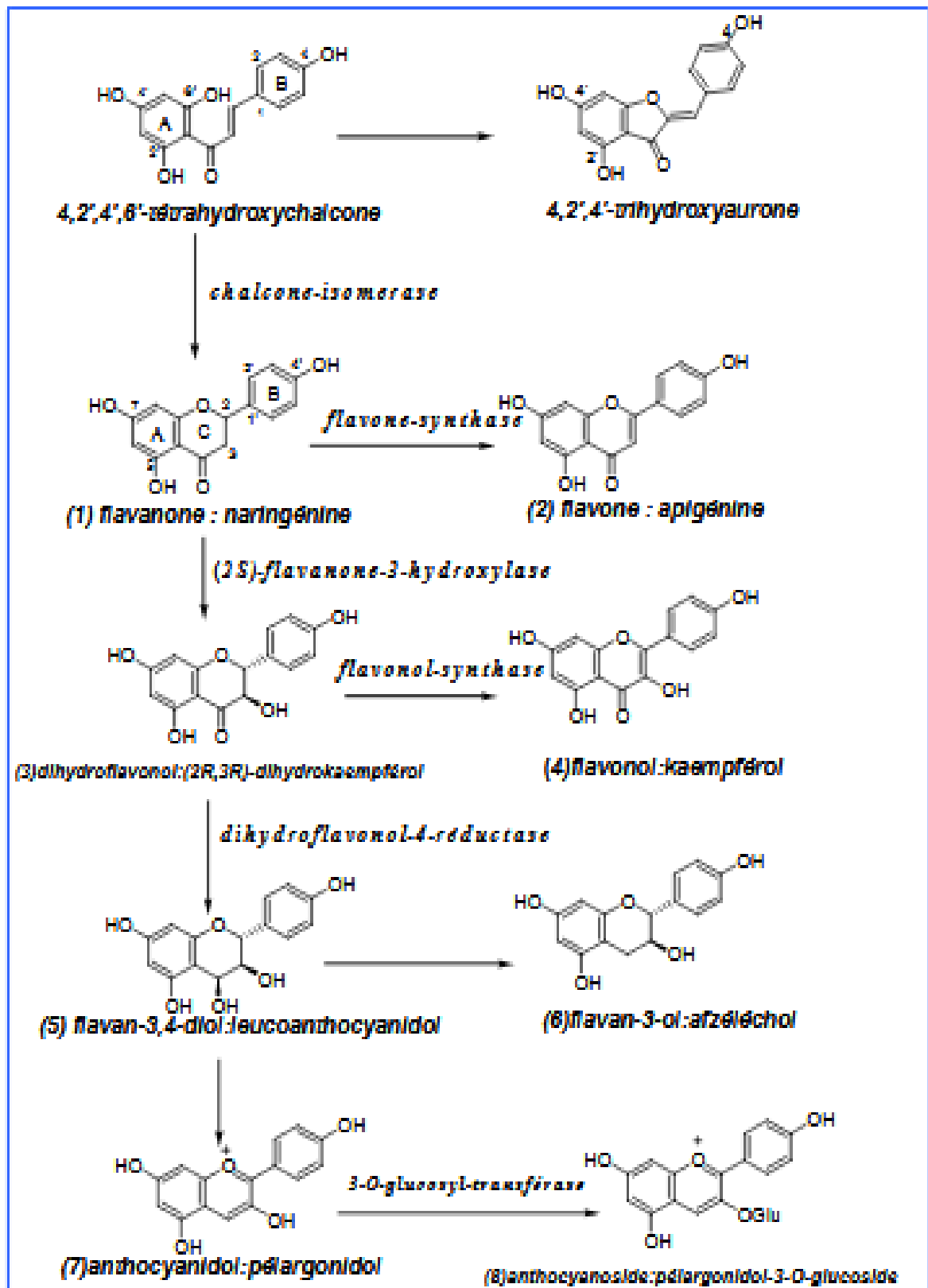


Figure 06: La biosynthèse des flavonoïdes (Bruneton, 1999) .

II.2. La quercétine:

La quercétine se trouve naturellement dans une grande variété d'aliments incluant les oignons rouges et jaunes, les pommes, des baies, le thé noir, les brocolis, certaines graines et des fruits oléagineux comme les noix.

La quercétine a fait l'objet de douzaines de rapports scientifiques au cours de ces trente dernières années. Elle semble avoir de multiples effets bénéfiques sur la santé de l'homme, incluant une protection cardiovasculaire, une activité anticancéreuse, des effets antiulcéreux, ainsi qu'une activité antiallergique, antivirale et anti-inflammatoire. La quercétine est utilisée comme modificateur de réponse biologique pour traiter certaines pathologies humaines (**Pereira et al, 2009**)

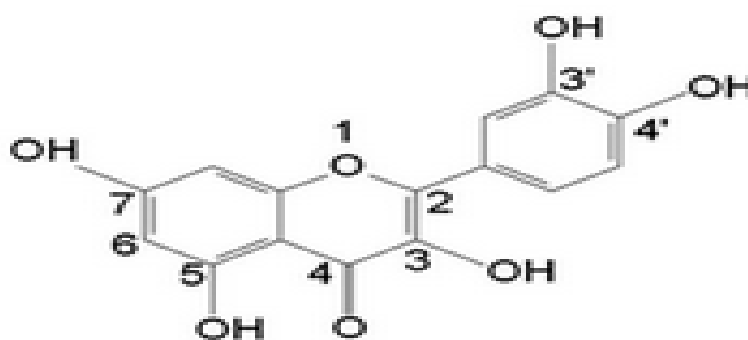


Figure 07: Structure chimique de quercétine

II.2.1. Propriétés de la quercétine :

Tableau 04: Propriétés chimiques et physiques de la quercétine (de PubChem)

Noms chimiques	La quercétine; 117-39-5; Sophorétine; La mélétime; Xanthaurine; Quercétine
Formule moléculaire:	C ₁₅ H ₁₀ O ₇
Masse moléculaire:	302,238 g / mol
Information sur les médicaments	Utilisations thérapeutiques Essais cliniques FDA UNII
Charge formelle	0
Le composé est canonique	Vrai

- **Propriétés expérimentales:**

DESCRIPTION PHYSIQUE: Aiguilles jaunes ou poudre jaune. Convertit en forme anhydre à 203-207 ° F. Les solutions alcooliques ont un goût très amer. (NTP, 1992) de (CAMEO Chemicals)

Solide :de la base de données sur le métabolome humain (BDMH)

Couleur :Aiguilles jaunes (alcool dilué, + 2 eau (de HSDB)

Point de fusion :601 à 603 ° F (NTP, 1992), 316.5 ° C(de HSDB)

Solubilité :moins de 1 mg / mL à 70 ° F (NTP, 1992)

Solubilité dans l'eau :60 mg / L (à 16 ° C) SEIDELL, A (1941)

II.2.2. Mode d'action de la quercétine:

Après administration orale d'une dose unique de 4 g de quercétine à quatre volontaires mâles et deux volontaires femelles, ni la quercétine ni ses conjugués n'ont été détectés dans le sang ou l'urine pendant les premières 24 heures; 53% de la dose a été récupérée dans les fèces en 72 heures. Après une injection intraveineuse unique de 100 mg de quercétine à six volontaires, les taux plasmatiques ont diminué de façon biphasique, avec des demi-vies de 8,8 min et de 2,4 h; la liaison protéique a dépassé 98%. Dans l'urine, 0,65% de la dose intraveineuse était excrétée sous forme de quercétine inchangée et 7,4% sous forme de conjugué dans les 9 heures; aucune excrétion supplémentaire est survenue jusqu'à 24 heures ...(de HSDB)

Lorsque 14C- quercétine a été administré par voie orale à des rats ACI, environ 20% de la dose administrée a été absorbée par le tube digestif, plus de 30% a été décomposé pour produire 14 CO2 et environ 30% a été excrétée sous forme inchangée dans les selles (de PubMed)

Un volontaire et une femelle ont reçu un régime contenant des glucosides de quercétine (64,2 mg exprimés en aglycone). La concentration plasmatique maximale moyenne de la quercétine était de 196 ng / mL, qui a été atteinte 2,9 h après l'ingestion. L'évolution temporelle de la concentration plasmatique de la quercétine était biphasique, avec des demi-vies de 3,8 heures pour la phase de distribution et de 16,8 heures pour la phase d'élimination. La quercétine était encore présente dans le plasma 48 heures après l'ingestion

(OMS, 1972)

Environ 25% d'une dose ingérée de quercétine est absorbée par l'intestin grêle et est transportée vers le foie via la circulation portale, où elle subit un important métabolisme de premier passage... La quercétine est fortement liée à l'albumine dans le plasma. Les concentrations

maximales de la quercétine plasmatique sont de 0,7 à 7 heures après l'ingestion, et la demi-vie d'élimination de la quercétine est d'environ 25 heures.

II.1.3. Effets de la quercétine sur l'organisme (Antioxydant, antibactérien ,anti-cancer...):

❖ Effet antioxydant

Un grand nombre de preuves indiquent que la quercétine possède de puissantes propriétés antioxydants. Ces dernières années, une importance particulière a été accordée aux propriétés antioxydants des flavonoïdes qui sont attribuées à leur capacité de piéger directement les radicaux libres, de chélater les ions métalliques impliqués dans la production des ROS *via* les réactions de Fenton et Haber-Weiss, d'inhiber quelques enzymes en particulier les oxydases, d'activer les enzymes antioxydants. Il semble qu'un grand nombre des effets biologiques de la quercétine et d'autres flavonoïdes puisse être expliqué par leur activité antioxydant et leur capacité à détruire les radicaux libres (**Joshi *et al*, 2005; Ramos *et al*, 2006 ; Zhang *et al*, 2011**). La fonction antioxydant de la quercétine est renforcée par la vitamine C. Ce renforcement est attribué à la capacité de la vitamine C à réduire la quercétine oxydée. Des effets bénéfiques encore plus puissants de la quercétine comme destructeur de radicaux libres et/ou comme inhibiteur de la peroxydation lipidique ont été observés en association avec la vitamine E et la vitamine C (**Zhang *et al*, 2011 ; Murota *et al*, 2003**) .

❖ Effet antibactérien et antiviral:

Des flavonoïdes ayant une activité antivirale ont été identifiés depuis 1940, mais des tentatives ont été faites récemment, pour faire des modifications synthétiques pour améliorer leur activité antivirale. D'après (**Dos Santos *et al*, 2014**). La quercétine et quercétine 3-O-glycosides possèdent une activité antivirale contre un arbovirus qui induit la fièvre de Mayaro. La quercétine aussi exerce un effet antibactérien en empêchant la croissance du *Helico bacter pylori* (**Ramoset *al*, 2006**) .

❖ Action anticanceruse:

Dans différentes expériences *in vitro*, la quercétine a montré des effets inhibiteurs de croissance de cellules cancéreuses Hela. Une activité anticancéreuse directe et une action synergique avec différents médicaments anticancéreux ont été attribuées à la capacité de la quercétine à inhiber la protéine kinase (**Puociet *al*, 2012**). En tant qu'antioxydants, la quercétine est capable d'inhiber le processus de la carcinogenèse mis en oeuvre par l'inhibition de type II estrogen bin ding site (type II EBS) (**Scambia *et al*, 1990**).

CHAPITRE III:
LE LAPIN ORYCTOLAGUS CUNICULUS

Chapitre III : Le lapin *Oryctolagus cuniculus***III.1.Généralités**

Le lapin domestique est un lapin européen qui a été domestiqué. Issus du «lapin de garenne» sauvage (*Oryctolagus Cuniculus*). Son but premier est la production de viande, mais il permet également la production de poils et de fourrures, L'ensemble de ces particularités fait du lapin un animal d'intérêt comme modèles dans les laboratoires (**Aoun et Merghadi, 2013**).

Les lapins de variétés différentes ont servi à l'établissement de modèles expérimentaux très utiles dans diverses sphères de la recherche biomédicale (embryologie, toxicologie, virologie, etc.) et constitue un bon modèle pour la chirurgie expérimentale. Et ils sont fréquemment utilisés dans des tests de toxicité (pyrogène, tératogénicité,... etc) (**Russell, Schilling, 1973**).



Figure 08 : Le lapin de garenne (*Oryctolagus cuniculus*)

Le lapin est un animal couvert d'une fourrure assez épaisse de couleur variable. Les principales zones du corps du lapin sont décrites sur la figure si dessous 08 Pour la majorité des races, à l'exception des races nains, l'allure générale du corps est différente selon le sexe (**Muriel, 2010**). Une tête large et forte, un thorax développé, des membres relativement épais et une musculature bien extériorisée sont généralement caractéristiques du mâle (**Aoun et Merghadi, 2013**).

Régime alimentaire :

Herbivore, le lapin de garenne se nourrit essentiellement de graminées et de nombreuses plantes herbacées. Opportuniste, il est capable de consommer également des végétaux ligneux comme les ronces, les ajoncs, les bruyères. Lorsque les apports du milieu naturel ne sont pas suffisants, il peut occasionner des dégâts considérables aux cultures et plantations forestières, (**Joly**

et al., 1990 ; Muriel 2010 ; Nchare, 1990). Le lapin de garenne présente une digestion particulière avec un comportement de caecotrophie. La première digestion produit des crottes molles, riches en protéines et vitamines synthétisées par la flore caecale. Ces caecotrophes sont ingérées par le lapin et leur digestion permet l'assimilation des nutriments d'origine bactérienne (Muriel , 2010) .



Figure 09: Alimentation du lapin

Longévité : 7 ans en moyenne (maximum 12 ans).

Croissance dentaire : 2 mm par semaine (mâchoire supérieure) / 2,4 mm par semaine (mâchoire inférieure).

Particularités : le squelette, a contrario de la masse musculaire, est très fragile chez le lapin. Le thymus persiste toute la vie de l'animal.

La conformation anatomique du lapin l'oblige à ne respirer que par le nez.

Poids moyen : 1,5 kg (nain) / 3,5 kg (Bélier) / jusqu'à 8 kg (races géantes).

Fréquence cardiaque : 150-325 bpm.

Fréquence respiratoire : 40-60 mpm.

Température rectale : 37,5-39 °C.

Couleur des muqueuses: rosées.

III.2. Classification zoologique:

Classification du lapin domestique nom scientifique *Oryctolagus cuniculus* L.

Tableau 05 : Classification du lapin selon (Aoun et Merghadi, 2013)

Règne	Animale
Embranchement	Chordé vertébré
Classe	Mammifère placentaire
Super-Ordre	Glires
Ordre	Lagomorphe
Famille	<i>Léporidé</i>
Genre	<i>Oryctolagus</i>
Espèce	<i>Oryctolagus cuniculus</i> L.

III.3. Biologie et reproduction:

L'espèce est organisée en groupes sociaux. Au sein de chaque groupe, les mâles et femelles dominants assurent la majorité de la reproduction. Un groupe social est composé en moyenne de 5-7 individus (2 à 10 généralement) vivant dans une ou plusieurs garennes. Un ensemble de groupes sociaux constitue une colonie.

Généralement les membres d'une colonie partagent les mêmes sites de gagnage (Arthuret Stahl, 1987).

Maturité sexuelle : 4-8 mois (femelle) / 5-7 mois (mâle).

Cycle sexuel : la lapine est en œstrus plus ou moins permanent car l'ovulation ne se produit que s'il y a eu accouplement. On considère donc qu'une femelle est en œstrus ou réceptive quand elle accepte de s'

accoupler. On la dit en dioestrus ou non-réceptive quand elle refuse.

Utérus : il possède deux cornes et deux cols bien distincts.

Nombre de mamelles : 4 paires.

Durée de gestation : 31-32 jours.

Durée de lactation : 3-4 semaines.

Saison de reproduction : toute l'année.

Taille moyenne de la portée : 3.

Poids à la naissance : 50-55 g.

Age d'ouverture des yeux : 10 jours.

Age au sevrage : 6 semaines.

Age de l'éruption des premières dents : à la naissance.

Age de l'éruption des dents adultes : à partir du 18e jour.

III.4. Physiologie et système hépatique :

- Teinte brun rouge, 80 à 120 g (soit 3,8 % du poids vif).
 - Très découpé, fissures profondes
 - Trois gros lobes (1 droit et 2 gauche) et un lobe caudé
 - Le ligament rond disparaît et le ligament falciforme est réduit
 - Artère hépatique propre donne un rameau pour chaque division du lobe caudé, et un rameau pour le lobe droit et se termine par deux branches dans les lobes gauches (**Samuel, 2006**).
 - Le rameau gauche de la veine porte irrigue le lobe carré et les lobes gauches. 4 veines hépatiques. Pas de conduit hépatique commun.
 - Vésicule biliaire (2 à 3 cm L et 8 à 10 mm l) enfouie dans sa fosse à laquelle elle adhère.
 - Le conduit cholédoque est fait de la jonction du conduit cystique et du conduit hépatique gauche qui draine souvent le lobe carré.
- Il reçoit plus loin le conduit hépatique droit qui draine le lobe droit, le lobe caudé et parfois le lobe carré.
- Il se termine à 1 cm du pylore , sur la partie crâniale du duodénum .

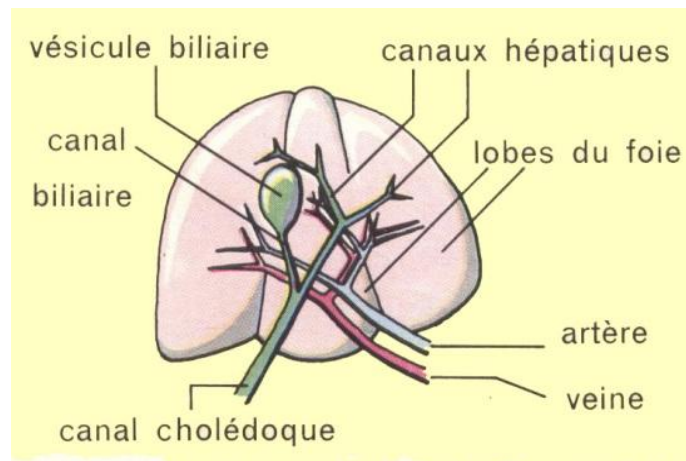


Figure 10 : Foie de lapin (Samuel, 2006) .

❖ Fonctions hépatiques:

Le sang de la veine porte parvient au foie chargé de très nombreuses substances issues de la digestion ou de l'activité des organes du système digestif. Ces molécules sont absorbées par les cellules du foie qui sont dotées d'enzymes spécifiques et permettent leur transformation chimique. Ces modifications effectuées par le foie sont vitales pour l'organisme; elles ont pour objectifs principaux (Bedossa, 1992, Benhamou *et al*, 1998, Kierszenbaum *et al*, 2006):

- * le stockage et la répartition des nutriments issus de la digestion (glycogène)
- * la dégradation des substances toxiques (biotransformations des médicaments, hormones)
- * la synthèse de la plupart des protéines du sang (facteurs de la coagulation)
- * la production de la bile.

❖ Rôle du foie dans le métabolisme des toxiques:

Le foie est un organe annexe du tube digestif, il remplit de nombreuses fonctions indispensables à la vie. D'une part, il participe au processus de la digestion par la sécrétion biliaire et d'autre part, il transforme l'apport discontinu des substances absorbées par le tube digestif en un flux continu de substances nutritives qui assurent une fourniture suffisante de principes nutritifs à l'organisme. Toutes les substances introduites dans l'organisme et atteignant le torrent circulatoire, y transitent et y subissent des transformations plus ou moins complexes de leurs structures avant d'être excrétées. Le foie se trouve de ce fait exposé à diverses agressions qui ont parfois de graves répercussions sur tout l'organisme (Guillouzo *et al* , 1989).

Les principales voies d'élimination des toxiques sont les voies hépato-biliaires et les voies rénales. Le foie transforme les toxiques en métabolites eux-mêmes parfois très agressifs pour

l'organisme. Les substances industrielles responsables d'action toxique sur le foie peuvent exercer leurs effets directement sur la cellule hépatique et entraînent alors des lésions dans les régions péri portales des lobules hépatiques ou le plus souvent elles seront toxiques après oxydation par le système microsomial et les lésions débiteront alors dans les zones Centro lobulaires (**Collat, 1999**).

**CHAPITRE VI:
STRESS OXYDATIF**

Chapitre : Stress oxydatif**1. Définition:**

Le stress oxydatif, dénommé également stress oxydant, résulte d'un déséquilibre de la balance « pro-oxydants/antioxydants » en faveur des oxydants (**Almasiova., et al, 2012**), ce qui se traduit par des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaires : les lipides avec perturbations des membranes cellulaires, les protéines avec l'altération des récepteurs et des enzymes, les acides nucléiques avec un risque de mutation et de cancérisation. Un stress oxydatif peut donc se développer suite à une surproduction des oxydants comme les espèces activées de l'oxygène et/ou à une diminution des systèmes de défense antioxydant (**Djellouli F, 2013**).

2. Radicaux libres :

Chaque cellule de l'organisme vivant peut générer de l'oxygène réactif, et certains types de cellules sont même spécialisés pour le faire, soit continuellement, soit sous la forme d'un "éclatement oxydatif". Un radical libre est défini comme étant toute espèce qui a un ou plusieurs électrons impaires, qui est difficile à être détecté, identifier et quantifier, aussi leur réactivité est responsable de leur toxicité (**Favier,1994 ; Packer et Glazer, 1990 ; Minisci, 1997**).

3. Antioxydants :

Les antioxydants sont des composés qui à faible concentration empêchent les dommages oxydatifs des molécules par les oxydants (radicaux libres et métabolites réactifs), tandis que les produits de la réaction entre oxydant et antioxydant ne devraient pas être toxiques (**Gutteridge et Halliwell, 2010 ; Durackova, 2014**). Deux classes d'antioxydants sont utilisées pour la suppression des radicaux libres produits au niveau des cellules et dans les tissus, soit directement par les piègeurs de ces radicaux libres (par exemple les vitamines E et C et les flavonoïdes) soit par des composés capables d'oxyder un radical libre par le mécanisme de transfert d'un électron (l'enzyme antioxydant (SOD) et l'Ubiquinone) (**Afanasev, 2009**). Selon leurs tailles on distingue : les antioxydants de poids moléculaire élevé comprennent :

L'enzyme superoxyde dismutase, la catalase, le glutathion peroxydase et protéiniques non enzymatiques tel que l'albumine, la transferrine, et de faible poids moléculaire qui

comprennent des composés hydrophiles et lipophiles produits en organisme, par exemple, l'acide urique, l'acide lipoïque, le Glutathion ou l'Ubiquinol. L'organisme obtient aussi des antioxydants exogènes à partir des aliments, par exemple, la vitamine C et la vitamine E et aussi des composés de structure polyphénolique synthétisés dans les plantes, y compris Flavonoïdes (**Laher, 2014**).

Beaucoup de recherches et de développement des composés exerçant des effets antioxydants ont été menées dans l'espoir de contrôler le stress oxydatif dans un certain nombre de maladies humaines. Un autre aspect fascinant dans les stratégies de défense antioxydante est lié à un certain nombre de vitamines et micronutriments antioxydants (**Favier, 1994**). Donc la cellule peut conserver des mécanismes antioxydants (glutathion, vitamine E et C, l'enzyme catalase et l'élément trace le sélénium) contre les effets des oxydants (**Tirosh, 2015**).

- **Malondialdéhyde (MDA)**

C'est un produit de décomposition oxydatif des lipides insaturés méditées par les radicaux libres c'est un marqueur de stress oxydatif. La détermination de l'MDA formée à partir de la peroxydation lipidique a été utilisée pour examiner l'apparition d'oxydants et les dommages associés à de nombreuses maladies comme le cancer, la maladie d'Alzheimer, l'arthrite, l'inflammation, le diabète, l'athérosclérose et le sida ainsi que le vieillissement (**Haj et al, 2012**). L'analyse de l'MDA est cependant extrêmement difficile car il est très réactif et facilement polymérisé en formant des produits d'addition avec des substances biologiques telles que les protéines, phospholipides et l'ADN (**Shibamoto, 2002**).

- **Glutathion réduit (GSH)**

Le glutathion est un tripeptide (L- γ -glutamyl-L-cysteinyl-glycine) (**Li et al., 2005**), joue un rôle important comme antioxydant endogène et dans le maintien de l'équilibre d'oxydo-réduction. En fait, le GSH participe à l'élimination du H₂O₂, en servant de co substrat à l'enzyme GSH-Px (**Ferrari et al., 1991**). Le GSSG formé par cette première réaction est à nouveau réduit en GSH par la GSH réductase, une enzyme qui utilise le NADPH comme cofacteur. Le GSH peut inhiber la peroxydation des lipides et s'avère efficace comme piègeur direct de certains ERO, tels les radicaux OH• et l'oxygène singulet ¹O₂ (**Halliwell., 1996**). Il est antioxydant par son caractère nucléophile et radicalaire : $GSH + \bullet OH \rightarrow GS\bullet + H_2O$ $2GS\bullet \rightarrow GSSG$

4. Les Antioxydants enzymatiques :

- **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 hydro peroxydes organiques (ROOH) en alcool (ROH) (**Favier, 2003 ; Fontaine, 2007**).

• Le Antioxydant non enzymatique

Polyphénols et flavonoïdes : Les flavonoïdes constituent le groupe le plus important de substances naturelles polyphénoliques de notre alimentation. Ce sont des composés ubiquistes que l'on retrouve dans les plantes (the, raisin, cacao, blé, orge, maïs, fruits et légumes...). Ils attirent l'attention de puis quelques années à cause de leurs propriétés antioxydants (Figure 11). En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyl, superoxyde et peroxy. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices (**Justine O, 2005**).

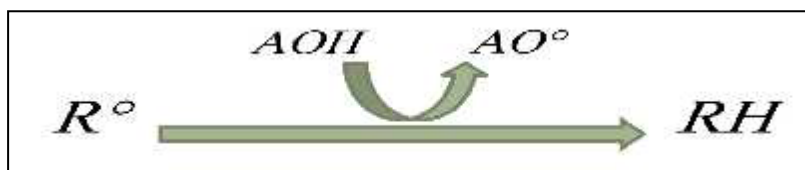


Figure 11 : Activité principale des polyphénols : le piégeage de radicaux libres. Le polyphénol (AOH) cède un atome H aux radicaux libres. Sa forme oxydée (AO°) est stabilisée ensuite par résonance ou dimérisation (**Justine O., 2005**).

Parties

Etudes experimentales

MATERIELS ET METHODES

Matériels et méthodes

I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel:

I.1.1. Matériel biologique :

La présente étude a été réalisée sur des lapins mâles: espèce *Oryctolagus cuniculus* au nombre de 20 lapins, provenant de l'institut Pasteur d'Alger, âgés de 6-8 semaines pesant entre 1.5-2 kg. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs. Largement utilisés dans divers domaines de la recherche expérimentale.



Figure 12 : Les lapins de garnne

I.1.2. Produits chimiques:

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

MATERIELS ET METHODES

I.2. Méthodologie:

I.2.1. Méthodes d'élevage:

Pour la réalisation de notre expérimentation, nous avons pris comme un modèle biologique 20 lapins (*Oryctolagus cuniculus*) . Tous les lapins sont pesés et leur poids varie entre 1.5 et 2 kg. Ils ont logés individuellement dans des cages métalliques pendant une période d'adaptation de 28 jours, ils sont divisés en 4 lots de 5 individus .

L'alimentation des lapins était à base d'alimentation artificielle spécifique pour les lapins .

Mesure de poids: La mesure de poids est effectuée sur les lapins tous les jours pendant la durée d'élevage, soit au cours de l'adaptation ou le traitement à l'aide de balance (Aston®).



Figure 13: L'élevage des lapins .

I.2.2. Mode de traitement :

Après la période d'adaptation nous avons commencé le traitement. La période du traitement est pendant 15 jours, elle est par voie orale selon leurs poids corporel. Donc le lotissement et le traitement dans notre expérimentation réalisé comme suivant :

- **Lots n°1:** contient 05 lapins comme témoin ; gavage d'eau distillé seulement.
- **Lots n°2:** contient 05 lapins pour le traitement par deltaméthrine à dose de 2 ml/kg/jour
- **Lots n°3:** contient 05 lapins pour le traitement par quercétine à dose de 2 ml/kg/jour
- **Lots n°4:** contient 05 lapins pour le traitement par deltaméthrine et quercétine à dose de 2ml/kg/jour.

MATERIELS ET METHODES

I.2.3 Sacrifice et prélèvement des organes:

Après 15 jours du traitement, on a sacrifié les lapins. Le prélèvement d'organes a été fait au niveau de laboratoire de l'université de Tébessa, les foies ont été récupérés et pesés.

- **Prélèvement du foie:**

Après le sacrifice des animaux, le foie a été rincé dans une le chlorure de sodium (NaCl) a 0.9 %, puis pesés. Le foie a été conservé a -20° pour dosage des paramètres hépatiques à savoir MDA, GSH et GPx .

- **Préparation de l'homogénats des organes :**

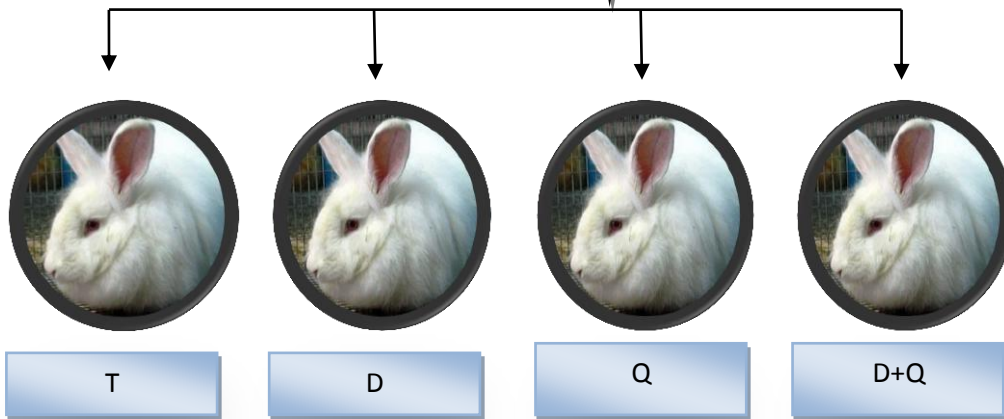
4 g de tissu (foie) de chaque lapin des différents lots étudiés, a été broyée avec 8 ml de solution tampon tris appelée aussi Tris-buffered saline (TBS), composée de, Tris 50 m M, NaCl 150 m M avec un pH 7.4, puis centrifugée à 3000 tours/min pendant 15 minutes, le surnageant obtenu est conservés à -20°C en vue d'effectuer le dosage des paramètres du stress oxydatif.

MATERIELS ET METHODES

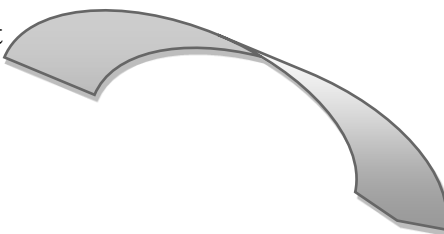


20 lapins

28 jours d'adaptation



Après 15 jours du traitement



Scrifice et prélèvement le foie

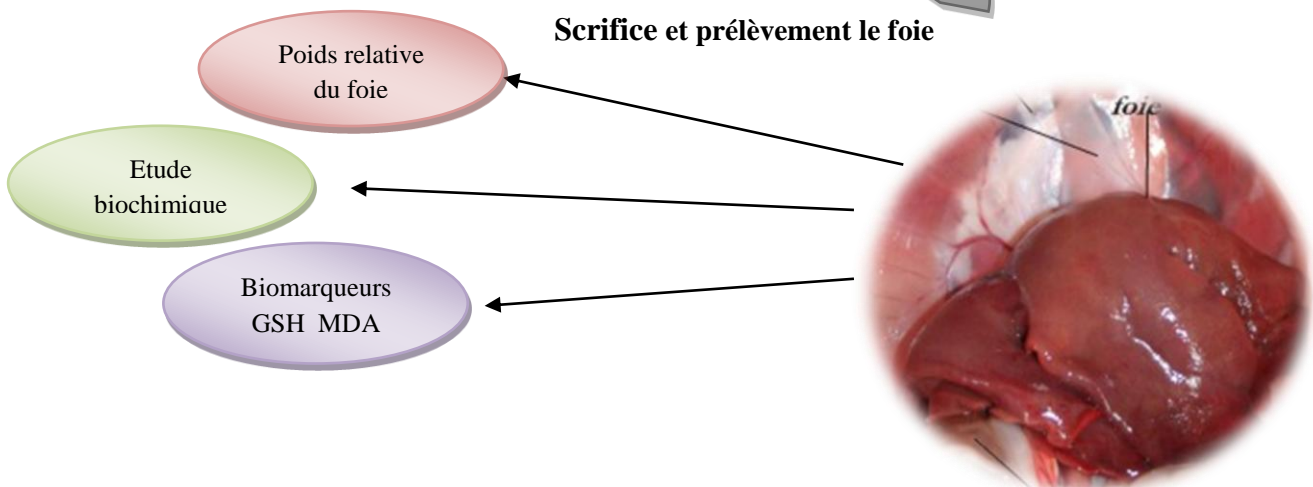


Figure 14: Schéma du protocole expérimental.

MATERIELS ET METHODES

II .1.Méthodes de dosage des paramètres biochimiques :

• Dosage des protéines tissulaires

La méthode utilisée pour le dosage des protéines est celle de (**Bradfor**s, 1976) qui utilise la BSA comme standard, on récupère le culot issu de la deuxième centrifugation auquel on a ajouté 1ml du NaOH (0.1N) et on agite énergétiquement pour la dissolution des protéines. Après, on prélève, au moyen d'une micropipette, un volume de 100µl auquel on ajoute 4ml du réactif BBC (Bleu Brillant de Coumassie) (50mg BBC +50ml d'acide ortho phosphorique 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 .

II.2.Méthodes de dosage des paramètres de stress oxydatif

• Dosage de malodialdéhyde (MDA) tissulaires

Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode (**Esterbauer et al .1992**). Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique, pour former un pigment rose. Une quantité de 375µl de surnageant est prélevée dans un tube sec, auquel est ajouté un volume de 150 µl de la solution TBS (tris50mM, 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 à80°C pendant 10minutes. La lecture de la densité optique des échantillons est mesurée par spectrophotométrie à 530 nm.

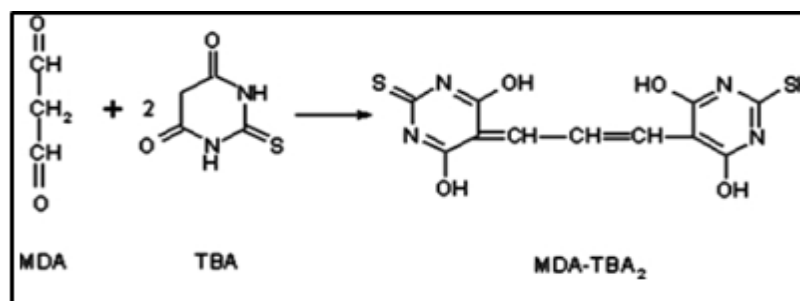


Figure 15 : Mécanisme réactionnel de l'MDA (**Ligor et al.,2011**).

MATERIELS ET METHODES

• Dosage de glutathion hépatique (GSH):

Le dosage du glutathion est réalisé selon la méthode de (Weckbeker et Cory, 1988). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance de l'acide 2-nitro-5-mercapturique, 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 enporcelaine.

L'homogénat est ensuite déprotéinisé en prenant 0.8ml de ce dernier auquel on ajoute 0.2ml d'une solution d'acide sulfo salicylique (SSA) à 0.25%. Le mélange est vortexé et laissé pendant 15min dans un bain de glace, et centrifugé ensuite pendant 5min à 1000t/min. 0.5ml du surnageant 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.

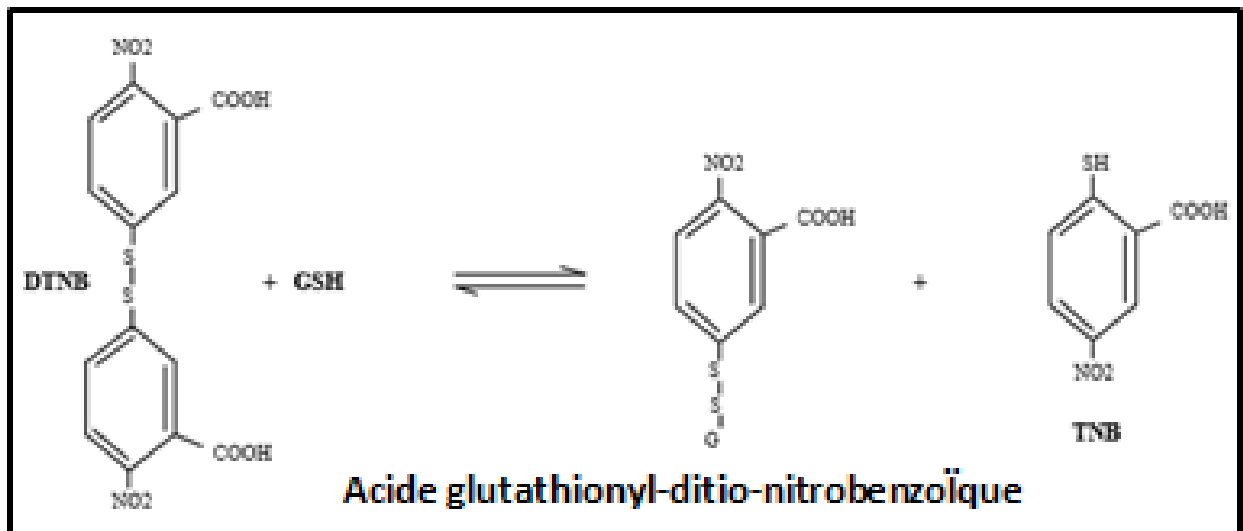


Figure 16: Mécanisme réactionnel du GSH (Baker, 1990).

MATERIELS ET METHODES

- **Dosage de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) :**

L'activité enzymatique de la (GPx) est mesurée par la méthode de (**Flohe et Gunzler, 1984**), en utilisant H₂O₂ comme substrat. Un volume de 0.2 ml d'homogénat 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 1.3 mM est ajouté pour initier la réaction.

Après 10 min 1ml de TCA 1% (acide tri chloro-acétique) est rajouté dans le but d'arrêter la réaction et le mélange est mis dans la glace pendant 30min et centrifugé durant 10min à 3000t/mn. Un volume de 0.48 ml de surnageant est placé dans une cuve auquel on ajoute 2.2ml de Na₂HPO₄ 0.32M avec 0.32ml de DNTB 1mM.

Ce mélange forme un composé coloré et sa densité optique est mesurée à 412nm chaque 30 sec pendant 5min.

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

homogénéisés dans 1ml de tampon phosphate (0.1M, pH6). L'homogénat est centrifugé à 14000 t/min pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzymes.

Le dosage consiste à faire réagir 200µl du surnageant avec 1.2ml du mélange CDNB (1mM), GSH (5mM) [20.26mg CDNB, 153.65mg GSH, 1ml éthanol, 100ml tampon phosphate (0.1M, PH 6)]. La lecture des absorbances est effectuée pendant une minute et chaque 15sec à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

RESULTAT

RESULTAT

II. Résultats :

II.1. Effets de la deltaméthrine et la quercétine sur les paramètres de la croissance (Poids relative; Gain de poids) chez le lapin

L'analyse de la croissance , Poids initiale et le poids relatif des organes (poids de l'organe /poids de l'animal) et Gain de poids est résumée dans le tableau 06 .

Tableau 06: Poids initial, gain du poids et poids relatif des organes chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux (n=5).

	Témoin	Deltaméthrin	Quercétine	Deltaméthrin+ Quercétine
Poids initial(g)	2180±423.40	2170±408.24	2172±413.03	2173±392.79
Gain de poids(g)	308±91.72	98.2±31.32	81.2±67.15	238.2±59.31
Poids relative (%)	2,70±0,06	3,7±0,4	3,1±0,4	2,9±0,3

Les valeurs représentent la moyenne ± écart type moyen (n = 5).

* p < 0.05 ; **p < 0.01 ; *** p < 0.001 comparaison avec le lot témoin

p < 0.05 ; p < 0.01; p < 0.001 comparaison avec le lot exposé à la deltaméthrine

NS : non significatif

Comme le montre le tableau l'exposition des lapins à la deltaméthrine leur ont provoquée une diminution hautement significative du poids, par rapport au témoin, on observe aussi une augmentation significative du poids chez lapin traités par la quercétine.

L'analyse du poids relatif du foie montre une diminution de ce dernier chez les lots traités par la quercétine, et une différence non significative chez le lot exposé à la deltaméthrine, par rapport au témoin.

RESULTAT

II.2.Effets de la deltaméthrine et la quercétine sur les paramètres biochimiques (protéines tissulaires).

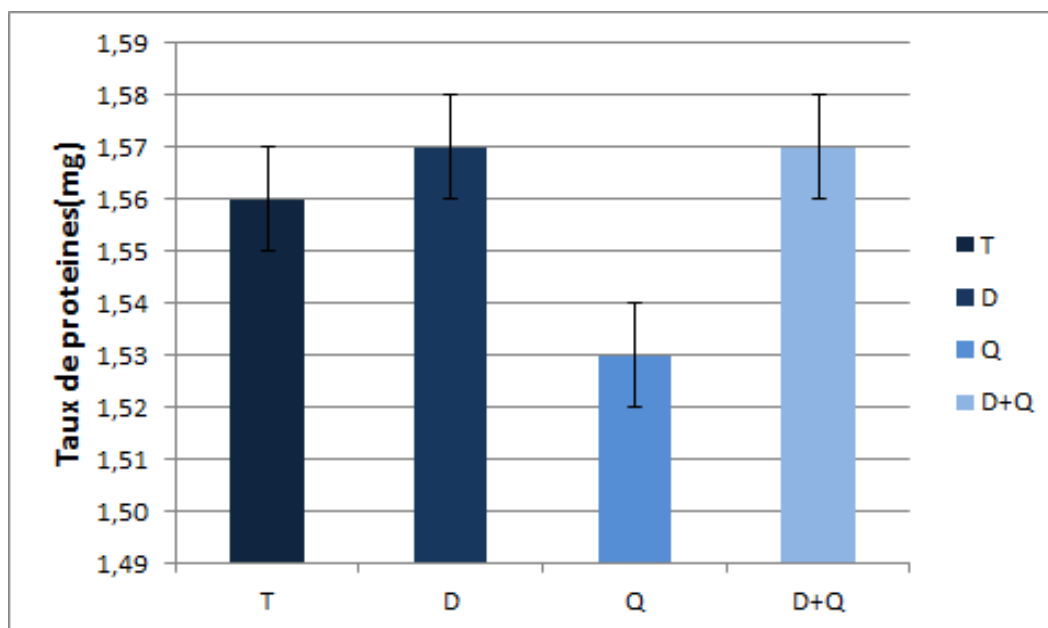


Figure 17 : Variation de protéines tissulaires dans le foie chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.

L'analyse de ces résultats nous montre une augmentation du taux de protéine chez le lots traités par la quercétine et le deltaméthrine et lots traités par (D), par rapport au témoin, aussi on observe une diminution de taux de protéine chez le groupe traité par la quercétine, par rapport au témoin .

RESULTAT

II.3.Effet de pesticide(Deltaméthrine) et la quercétine sur les paramètres tissulaires du stress oxydatif dans le foie .

- **Etude de la peroxydation lipidique (MDA)**

L'effet du traitement par la quercétine et Deltaméthrine sur la peroxydation lipidique (MDA) hépatique, chez le lapin est représenté dans la figure 18.

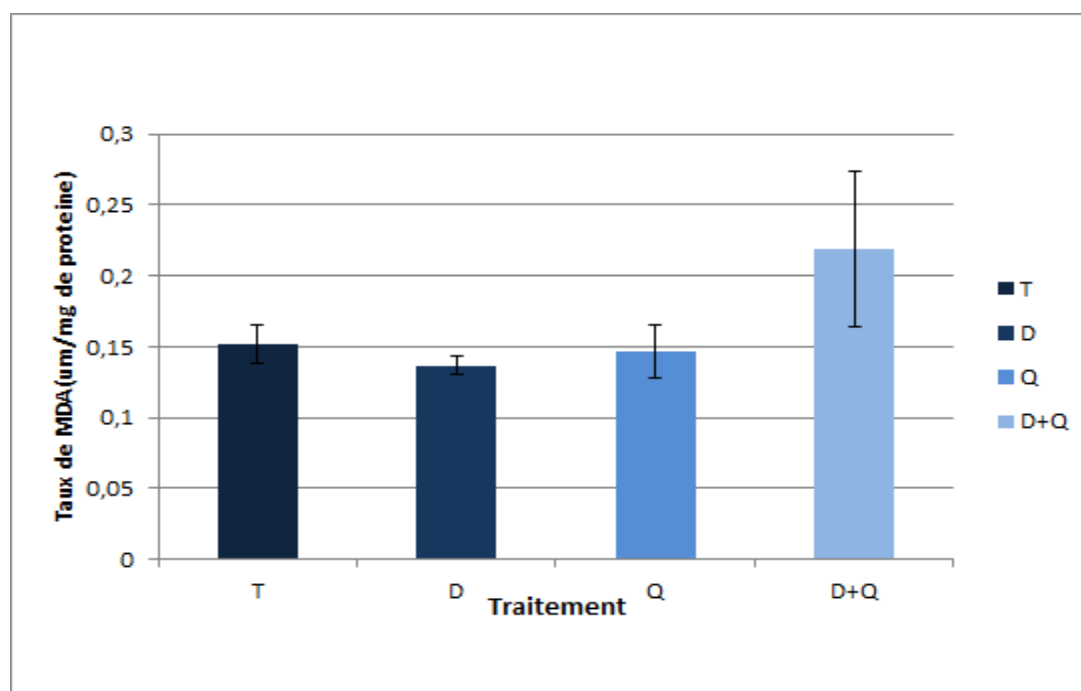


Figure 18 : Variation de la Malondialdéhyde (MDA) dans le foie chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.

Les valeurs représentent la moyenne \pm écart type (n = 5)

Comparaison avec groupe témoin (T): * p < 0.05 ; ** p < 0.01; *** p < 0.001

Comparaison avec groupe témoin exposé à le Deltaméthrine (TD)

a : p < 0.05; b : p < 0.01, c : p < 0.001

L'analyse de ces résultats nous montre une augmentation du taux de l'MDA chez le

lots traités par le mélange de quercétine et deltaméthrine, par rapport au témoin, aussi on observe une diminution de la concentration de l'MDA chez le groupe traité par la quercétine et lot exposé au Deltaméthrine , par rapport au témoin.

RESULTAT

- **Dosage du glutathion réduit (GSH)**

L'effet du traitement par la quercétine et Deltaméthrine sur le glutathion réduit (GSH) tissulaire, est représenté dans la figure 19.

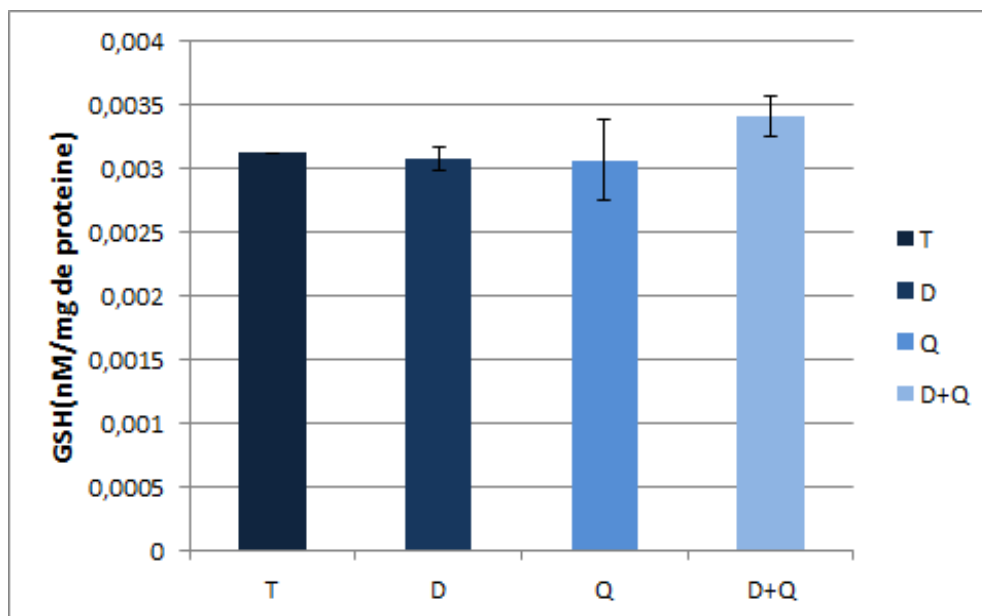


Figure 19 :Variation de la concentration du glutathion (GSH) dans le foie chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.

Les valeurs représentent la moyenne \pm écart type (n = 5)

Comparaison avec groupe témoin (T) * p < 0.05 ; ** p < 0.01; *** p < 0.001

Comparaison avec groupe témoin exposé à le deltaméthrine (TD): a : p < 0.05; b : p < 0.01, c : p < 0.001.

En ce qui concerne le GSH (au niveau du foie), on remarque une diminution de sa concentration chez le lot exposé au pesticide et le lot traité par la quercétine , par rapport au témoin, aussi on note une augmentation du taux de GSH chez les lots traités par mélange le quercétine et le deltaméthrine (D+Q) par rapport au témoin.

RESULTAT

- **Etude du Glutathion peroxydase (GPx)**

L'effet du traitement par la quercétine et Deltaméthrine sur Glutathion peroxydase (GPx), est représenté dans la figure 20.

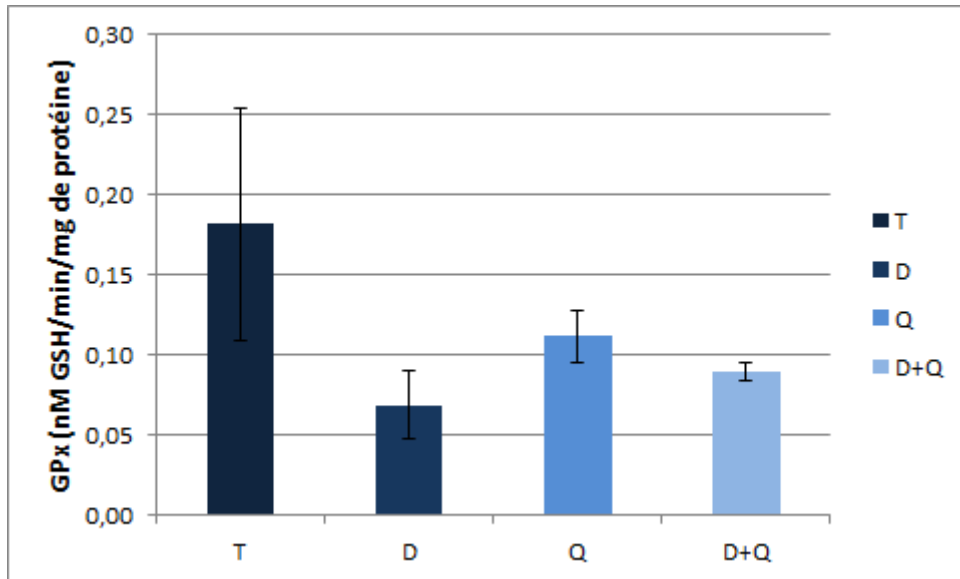


Figure 20 : Variation de la Glutathion peroxydase (GPx) dans le foie chez le groupe témoin et les groupes expérimentaux.

Les résultats de l'évaluation de l'activité du GPx dans le foie chez les Lapins traités par le pesticide seul ou en association avec la quercétine sont représentés dans la figure 20 .

Une diminution de l'activité enzymatique de la GPx chez le groupe traité par deltaméthrine par rapport au groupe témoin. Chez les groupes recevant le pesticide associés à la quercétine ont présenté. Une diminution de l'activité enzymatique de la GPx Par rapport au témoins.

DISCUSSION

DISCUSSION

Le stress oxydatif est l'un des principaux mécanismes de toxicité associés à une panoplie de xénobiotiques dans l'environnement, parmi les quels, on retrouve les pesticides et les produits phytosanitaires (**Lauvverys et al., 2007; Lukaszewicz, 2008**). Dans cette présente étude, nous sommes intéressés, à priori à la mise en évidence d'un éventuel effet hépatotoxicité sur le foie chez le lapin exposé à des petites doses plus réalistes possibles de la deltaméthrine (DM), et en second lieu à l'intérêt de la prévention de cette toxicité par la quercétine (QR), molécule de grande importance dans la cytoprotection contre les effets délétères du stress oxydant engendré très souvent par les xénobiotiques. Des travaux biochimique, biologique étaient plus qu'indispensables pour cerner, d'une manière scientifique satisfaisante. bien que certains plantes médicinales sont utilisées à travers le monde dans le traitement des pathologies cardiovasculaire, le diabète et l'hypertension artérielle. En effet, des études ont montré que de nombreuses plantes sont utilisées, en médecine traditionnelle, pour leur prétendues activités hypoglycémiantes, hypolipémiantes et antioxydantes (**Fezan et al., 2008**).

Le métabolisme des xénobiotiques (pesticides) chez les mammifères est un mécanisme important par lequel les organismes se protègent contre l'effet toxique des xénobiotiques dans leur approvisionnement alimentaire

Des études qui ont été faites sur les pesticides ont montré que ces derniers se réagissent différemment d'un organe à l'autre (**Anil et al., 2013**). Du fait de sa fonction désinfectrice le foie est le premier organe ciblé, par les xénobiotiques y compris les pesticides (**Ping et al., 2013**). Il est démontré que les pesticides provoquent une hépatotoxicité par des changements du profil des protéines ou des enzymes marqueurs hépatiques comme (MDA, GSH, GPx)

Des études montrent que les pesticides provoquent une augmentation de l'activation de ces enzymes au niveau de surcharge accompagnée d'une augmentation du niveau d'oxydation (LPO) Avec une diminution des enzymes antioxydantes (**Sameeh et Abdel-Tawab, 2009**). Les lésions tissulaires ne se limitent pas à la toxicité aiguë et chronique, le (D) par exemple peut provoquer des dommages biochimiques et structurels dans le foie des lapins, (**bousamia et al., 2007**). tandis que le reste du tissu n'a montré aucun effet ; cela est expliqué par le rôle fondamental du foie à divers stades dans la désintoxication, ce qui lui rend plus exposé aux pesticides et leurs métabolites.

La possibilité d'affectation du tissu hépatique par le stress oxydatif résultant à l'exposition aux pesticides est en relation avec l'existence d'un équilibre entre le degré du stress oxydatif et la capacité antioxydante enzymatique (**Sameeh et al., 2007**). Parmi les dommages hépatologiques les plus importants, le changement pathologique de l'épithélium hépatique notamment la dégénérescence focale du cytoplasme, Une atrophie hépatique et une destruction de l'architecture

DISCUSSION

hépatique normale ont été constatées suite à l'exposition des lapins à ces pesticides (Raja et al., 2008). Les dommages hépatiques engendrés par l'exposition aux pyréthrinoides sont souvent accompagnés par une remarquable altération de la défense antioxydante dans le foie, ce qui laisse supposer que ces derniers sont en rapport avec une production massive de ROS induite par ces pesticides. C'est ainsi que plusieurs auteurs proposent le stress oxydant comme le mécanisme clé de la toxicité des pesticides (Mahboub et Kour, 2007 ; Miyazaki et Hodgson, 2001)

la question posée dans la problématique que l'on a posée dans l'introduction de cette étude.

1. Effet de pesticide et la quercétine sur les paramètres de la croissance

Les résultats de l'évaluation des paramètres pondéraux suggèrent que l'administration de DM provoque une diminution significative de la croissance corporelle des différents groupes de lapins. Cette diminution peut être traduite par la perturbation du métabolisme cellulaire sous l'effet du stress oxydatif engendré par les ROS constaté dans cette étude, ainsi que par d'autres médiateurs chimiques tels que certaines cytokines pro inflammatoires que l'organisme puisse libérer après les effets toxiques des pesticides (Carole et Harve, 2011 ; Viviana, 2015).

La réduction du poids corporel peut être le résultat également du phénomène anorexique que les animaux puissent subir avec le temps de l'exposition aux xénobiotiques et l'état de stress dans lequel vivent durant la période de cette exposition (Viviana, 2015 ; Chakroun et al., 2016). En effet, de nombreux mécanismes d'action ont été établis pour expliquer l'anxiété liée au stress, ces résultats sont en accord avec les travaux de Anadn et al., (1991) et Bourbia (2013), qui ont signalé une réduction dans la consommation de la nourriture chez les lapines 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., 2016).

2. Effet de pesticide et la quercétine sur les paramètres biochimiques (Les protéines)

Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent une fonction thiol (SH). Comme les protéines de transport qui deviennent inactivées suite à leur oxydation. Les protéines peuvent alors soit subir des réticulations par formation notamment de ponts bi-tyrosine détectables par leur fluorescence, soit subir des coupures en cas d'agression forte, soit des modifications de certains acides aminés en cas d'agressions modérées. Les protéines modifiées par oxydation perdent leurs propriétés biologiques (enzyme, anti-enzyme, transporteurs, récepteurs...) et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action des protéases et notamment du

DISCUSSION

protéasome (**KEBIECHE., 2009**) D'après les résultats de ce étude , l'exposition des lapins aux pesticides (DM) a induit un effet perturbateur du métabolisme général des cellules hépatique .

L'augmentation également du taux des protéines après l'exposition des lapins aux pesticides traduit la synthèse des enzymes et peptides de défense contre le déséquilibre homéostatique du stress oxydatif : (**Anadn et al., 1991 ; Benbouzib, 2012 ; Rouabhi et al., 2015**) défini comme étant un déséquilibre entre la production des radicaux libres (RL) et la création des métabolites, appelés oxydants, et leur élimination par des mécanismes de protection nommé systèmes antioxydants (AOX) (**Laher, 2014**) .

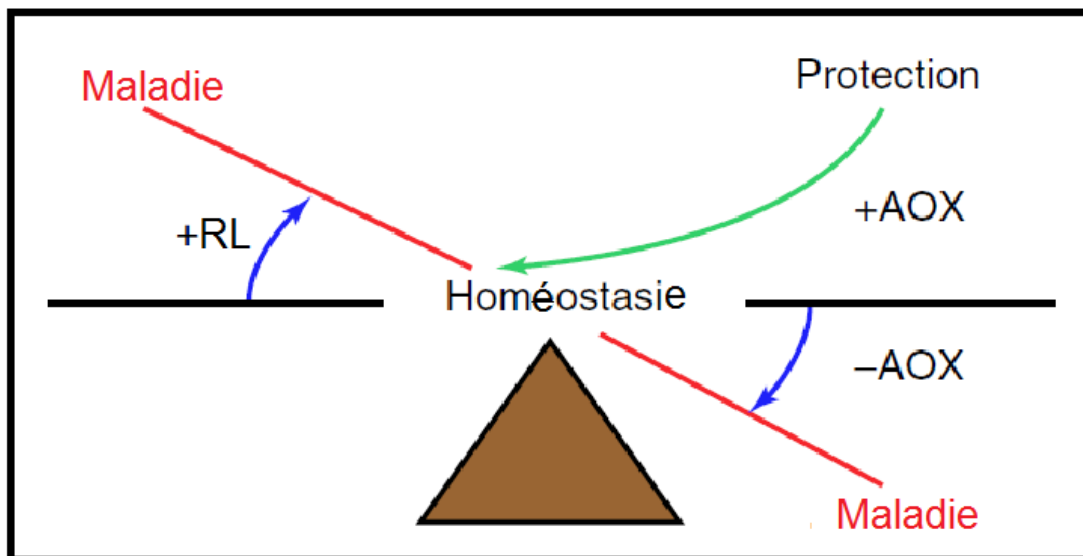


Figure 21:L'homéostasie est un équilibre entre les niveaux de radicaux libres (RL) et les antioxydants (AOX). (**Armstrong et Stratton ,2016**)

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 paramètres biochimiques étudiés dans ce présent travaux.

3.Effet de pesticide (Deltaméthrine) et la quercétine sur les paramètres tissulaires du stress oxydatif dans le foie:

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

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

DISCUSSION

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

Dans notre étude Nous enregistrons une augmentation du marqueur de la peroxydation lipidique le MDA, dans le foie chez le lot exposé a la deltaméthrine, par rapport aux témoins, ce qui indique une diminution des antioxydants qui jouent un rôle très importants dans l'inhibition de la peroxydation lipidique (**Vertuani et al., 2004**), il est important de savoir que l'oxydation des lipides rendent les membranes plus rigides aboutissant au développement de beaucoup de processus pathologiques (**Das et al., 2004 ; Levin et al., 1990**). Ces résultats peuvent être expliquer par l'accumulation des radicaux libres, générés par la deltaméthrine le tous se traduit par une peroxydation lipidique dans les tissus hépatiques . Par contre, nos résultats montrent que le traitement par la quercétine pourrait empêcher l'altération induite par la deltaméthrine, en jouant un rôle important dans la prévention des complications induites par la peroxydation lipidique .

Nos résultats montre que l'activité du GSH hépatique et a diminué chez les lapins exposés a la deltaméthrine, lapins exposé a la quercétine, par rapport au témoin, en revanche on constate une augmentation significative chez les autres lots, et ce ci par rapport au groupe exposé à la deltaméthrine. Face au dommage oxydatif causé par les radicaux libres oxygénés sous l'effet toxique du xénobiotique, la cellules vivante peut se défendre grâce à plusieurs système de détoxification dont le plus important est celui du glutathion qui est un tri peptide jouant un rôle à divers niveaux dans la lutte contre le stress oxydatif (**Kaplowitz et al., 1985 ; Masella et al., 2005**). Ce système enzymatique contient également le glutathion S-transférase qui catalyse la réaction entre le glutathion réduit et les substances étrangères, avec la formation des métabolites glutathion-conjugués (**Saka et al., 2011**). L'augmentation de l'activité de ces enzymes antioxydants peut servir de mécanisme de compensation supplémentaire pour maintenir l'intégrité de la cellule et la protection contre les dommages des radicaux libres (**Boelsterli, 2007**).

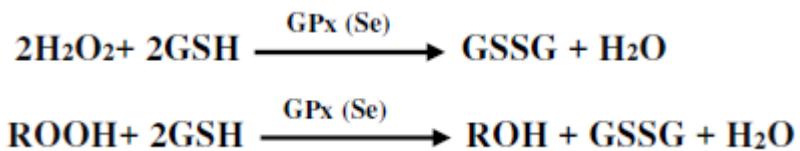
Nous avons observé une restauration des activités des enzymes antioxydants chez les lapins intoxiqués par la deltaméthrine après l'administration des quercétine qui suggère l'effet protecteur de ces produit contre les dommages oxydatifs induits par le xénobiotique .

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

DISCUSSION

stimule à son tour l'activité de la catalase, Ce dernier est alors pris en charge par le glutathion peroxydase (GPx) : toutefois L'inhibition des ses enzymes se fait par la surproduction de l'anion superoxydes au par l'impact direct des pesticides pyréthrinoïdes sur les synthèses d'enzymes (Mevlüt et al, 2013) ainsi que les glutathion-peroxydases (GPx) qui jouent un rôle de détoxication .

Les GSH-Px ont une action détoxicante vis-à-vis de 2 substrats :



L'activité de détoxication des GSH-Px face aux hydro peroxydes nécessite une autre enzyme ,la PLA2. Cette dernière libère les peroxydes d'acides gras des membranes cellulaires en hydrolysant les fonctions esters des phospholipides membranaires. Les peroxydes libérés dans le cytosol sont alors transformés par la GSH-Px tandis que la chaîne d'acides gras manquante est re synthétisée

CONCLUSION

CONCLUSION

Conclusion

L'objectif de la présente étude était d'évaluer la hépatotoxicité chez le lapin de pesticide nouvelle introduit en Algérie à savoir la deltaméthrine et l'effet préventif d'un polyphénol (Quercétine) sur cette toxicité. A la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que :

* Le pesticide (DM) est provoquer également des altérations dans le bilan de stress oxydatif qui traduit par une perturbation de taux de GSH et MDA, l'activité de GPx .

*Le gavage de la quercétine à dose de pendant 2 ml/kg/jour aux lapin traités par la DM a rétabli toutes les valeurs a la normal, ce qui traduit l'effet protecteur de la quercétine sur la fonction hépatique .

En conclusion, cette étude, problèmes sanitaires liées avec ces pesticides, de cet effet, ce travail de mémoire peut être complété par des études plus mécanistiques et comme perspectives on propose de :

✓ Déterminer les effets de métabolites finals de la DM l'organisme après une exposition dans les mêmes conditions expérimentales.

✓ Développer une dose spécifique et plus efficace de la quercétine, capable d'être utilisé comme antidotes spécifiques contre les différents types d'intoxication par ces pesticides (hépat, neuro,néphro ,pneumotoxicité)

REFERENCES

REFERENCE

Références bibliographique :

A

Achour ,S., Khattabi ,A., Rhalem ,N., Ouammi ,L., Mokhtari .A ., Soulaymani ,A., Soulaymani Bencheikh ,R ., (2011) L'intoxication par les pesticides chez l'enfant au Maroc : profil épidémiologique et aspects pronostiques (1990-2008) », Santé Publique. 23 :195-205

agriculteurs utilisant les pesticides. Memoire pour l'obtention du diplome de magister

Alain .,Michel ,B.,Michel C., (2004). pesticides sécurité alimentaire CSAA.216p

Almasiova ,V., Holovska K., Tarabova L., Cigankova V., Lukacinova A., Nistiar F.(2012). Structural and ultrastructural study of the rabbit testes exposed to carbamate

analytical methods in Lyme borreliosis monitoring. Publication Medicinal Central

Anil.P., Ashok,G.,Roshan.I.,BadriPrakash N.(2013)Antioxydant and hepatoprotectiveac

Aoun, H., Merghadi ,H. (2013).Effet des vitamines E et D sur l'hématotoxicité avec le cadmium chez les lapins. Mémoire de fin d'étude(Master). Université de Tébessa. Algérie

Armstrong, D. (2015). Advanced Protocols in Oxidative Stress III. Springer Science et Business .Media, New York. Chap10, P 123.124.125. Chap 4, P 49

B

.Baker, M., Cerniglia, G. & Zaman, A. (1990). Anal. Biochem. Edion mason. France, Paris.P 190

Berrah, A. (2011). Effet des pesticides. Mémoire de Master 2, Université de Tébessa Algérie

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

Bouvier,G.,(2005).contribution à l'évaluation de l'expositionde la population francilienne aux pesticides .université rené descartes-parisv.

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

Braquenier,J.B.,(2009). Etude de la toxicité développementale d'insecticides organophosphores. Analyse comportementale de la souris CD1 .thèse presente pour l'obtention de grade de doctorat

Brugnon, F. (2009). Apoptose du spermatozoïde et fertilité masculine. Thèse doctorat, Ecole doctorale des sciences de la vie et de la santé, 276p

,Brunetonj., 1999 . Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales Paris :Editions

REFERENCE

C

Calvet ,RE. ; Barriuso C. ; Bedos ,P. ; Benoit ,M P. et Charnay ,Y., (2005). Les pesticides

Camard J P., Magdelaine C., (2010). Produits phytosanitaires risques pour

CCHS., (2001). deltamethrin, Last revision date In : base de données HSDB. Hamilton : Centre canadien d'Hygiène et de Sécurité

.d'aménagement et d'urbanisme, Observatoire regional de sante d'Ile-de-France(IAU/ORS).58-62

D

Direction Générale De La Santé (2005). L'eau Potable En France,Guide Technique Eau E Tsante, 52p

Djellouli ,F. (2013).Aspect qualitatif et quantitatif des lipoprotéines sériques chez les

Duffus, J. H. & Worth, H. G. J (2006). Fundamental Toxicology. The Royal Societyof Chemistry publishing.Ukrani. Chap. 22, PP.290 – 296 en biologie enzyme activities of Nilaparvatalugens . Ecotoxicology and Environmental

E

Esterbauer ,H. Gebicki ,J. Puhl ,H. Jungens ,G .(1992) .The role of lipid peroxi dation and antioxidants in oxidative modification of LDL. Free Radic Biol Med 13: 341

European Commission.,(2002). Review report for the active substance deltamethrine : EC - Health and consumer protection directorate general - E1 Plant health

F

Favier , A., (1997) . Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie

Favier ,A. (2003). Le stress oxydant. L'actualité Chimique. P.108-115

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

haematological parameters of Cyprinus carpio carpio: Ameliorative effect of lycopene

histopathological alterations in rats exposed to chlorpyrifos and the antioxidant

H

HSDB :Banque de données sur les substances dangereuses (HSDB)

REFERENCE

I

INRS., (2007). Deltaméthrine. Institut National de Recherche 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

INRS., (2016). Deltamethrine. Base de données fiches toxicologiques. 07pp.

insecticide. Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous

Institut Français De L'environnement (2006). Les Pesticides Dans Les Eaux. Les Dossiers, N°5 , 40p.

J

Justine,Odile, Carole pastre,.(2005). intérêt de la supplementation en antioxydants

K

,Karami-Mohajeri, S., Abdollahi, M., (2011). Toxic influence of organophosphate carbamate, and

Kebieche,M ., Lakroun ,Z., Lahouel, M., Bouayed ,J ., Meraihi ,Z ., Souliman, R. , (2009) Evaluation of epirubicin-induced acute oxidative stress toxicity in rat liver cells and mitochondria, and the prevention of toxicity through quercetin administration. Experimental and Toxicologic Pathology 61: 161-167 l'environnement et la sante connaissances des usages en zone non agricole. Institut

L

Laboratoires YVES PONROY : BP1211 - 85612 MONTAIGU

Laher, I. (2014). Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants, Springer

Lauvverys .R, Vincent .H, Dominique .L., (2007). Toxicologie industrielle et intoxication professionnelles. Masson 31-288pp

Ligor, M., Olszowy, P. & Buszewski, B., (2011). Application of medical and

M

Mahaboob Khan, S., Kour ,G.(2007) . Subacute oral toxicity of chlorpyrifos and

Mar; 402(7): 2233–2248

médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur, 55 (1). Pp. 9 – 16

médicales internationales, éditions Tec & Doc Lavoisier, 1120p

Merhi M., (2008) . Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses

Mevlüt, S .U.(2013).Chlorpyrifos-induced changes in oxidant/antioxidant status and

REFERENCE

Morgan ,M.,Wilson,.N.,chuang ,J.(2014). Exposures of 129 preschool children to organophosphates, pyrethroids, and Acidic herbicides at their homes and daycares in north Carolina. *international journal of environmental*

Moffat, A. C., Osselton, M. D., Widdop, B. (2011). *Clarke's analysis of drugs*

Muriel C. 2010. *Les maladies transmissibles des lapins de garenne (Oryctolagus .*

N

Nchare ,A. (1990) . Les organes thoraciques des lapins domestiques, anatomie

O

Organisation mondiale de la santé, (1972)

organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins and carbohydrates : a systematic

P

.Pesticide Biochemistry and Physiology 93 34–39

.Pharmaceutical press. USA (fourth edition). Chap. 16, PP. 258-259

Ping Ma, Yang Wu, Qiang Zeng, Yaping Gan, Jiaoe Chen, Xin Ye, Xu

:poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material. Edition

protective effect of green tea extract. Pestic Biochem Physiol. 89 : 118-23

Pubmed .united states national library of medicine

S

Sameeh ,A. M ; Abdel-Tawab, H. Mossa. (2009) .Lipid peroxidation and oxidative

Sameeh, A. M ;Abdel-Tawab, H. M.(2010).Oxidative damage, biochemical and

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

.stress in rat erythrocytes induced by chlorpyrifos and the protective effect of zinc

Substances and Environmental Engineering. 47 :1319-1328.

W

Weckbercker G and Cory JG (1988) Ribonucleotide reductase activity and growth of Glutathione dependent mouse Leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letters* 40: 257-264

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

REFERENCE

Y

Yang,.(2013). Oxidative damage induced by chlorpyrifos in the hepatic and renal tissue of Kunming mice and the antioxidant role of vitamin E *Food and Chemical Toxicology* ,58: 177–183

ANNEXES

ANNEXE

Annexes I

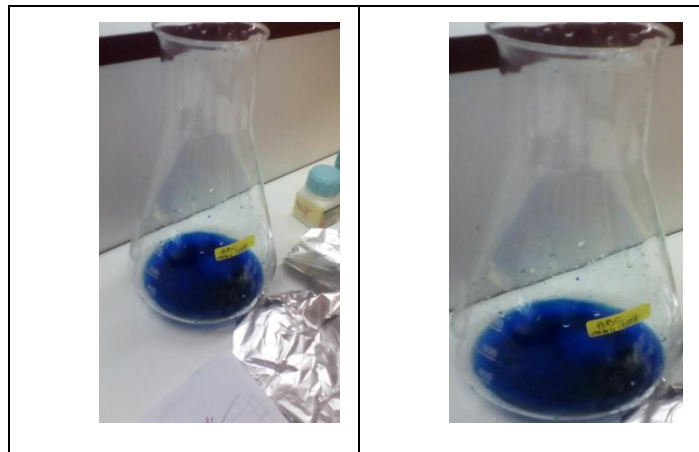
Préparation des solutions :(15 SOLUTIONS)



1 : pour dosage des protéines :''Bradford''

*BSA (1mg/ml) : dissoudre 5mg BSA dans 5ml d'eau distillé

*réactif de Bradford''BBC''

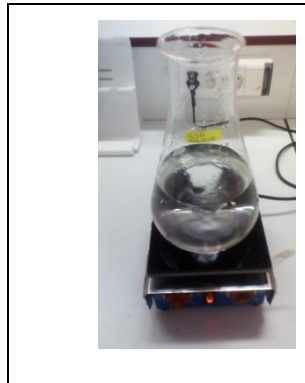


100mg''BBC'' → 50ml éthanol (95%) → agitation 2h

Puis ajouter 100ml ''acide orthophosphorique ''85/ et 850ml d'eau distillé (pour obtenir 1l de solution → conservation à 4°C

ANNEXE

2 : Dosage de GSH :



*tris (0.4M) , EDTA (0.02M) et PH =9.6 : 12.11mg Tris et 1.87g EDTA dans 250ml d'eau distillé .

Ajuster P_H à 9.6

*EDTA (0.02M) : 5.61g EDTA dans 750ml ED

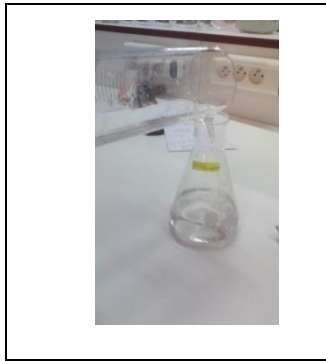


*DTNB (0.01M) : dissoudre 200mg DTNB dans 50ml de méthanol



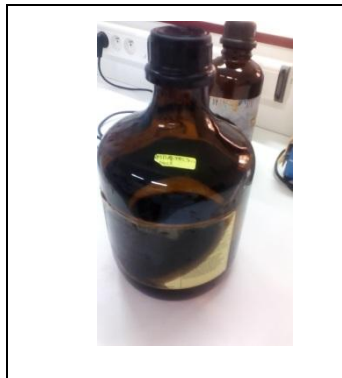
ANNEXE

*Acide Salicylique (0.25) : 250mg ASS dans 100ml ED



3 : Dosage MDA :

TBS, Tris, NaCl, pH7.4 : 8.775g NaCl dans 1L eau distillé , puis 6.06g Tris et compléter le volume a 1L par la solution NaCl. Ajuster PH7.4



*TCA-BHT : 20g TCA dans 100ml d'eau distillé pour obtenir TCA 20%, puis poser 1g de BHT et compléter le volume a 100 ml par solution TCA 20% et agiter a chaud

*HCL 0.6M : prélever 51.5ml d'HCL et compléter le volume a 1L par l'eau distillé (ED)

*TRIS-TBA : 3.15g TRIS → 1L ED 17.30g TBA compléter volume a 1L par solution TRIS (26Mm)

4 : Dosage de GPX :

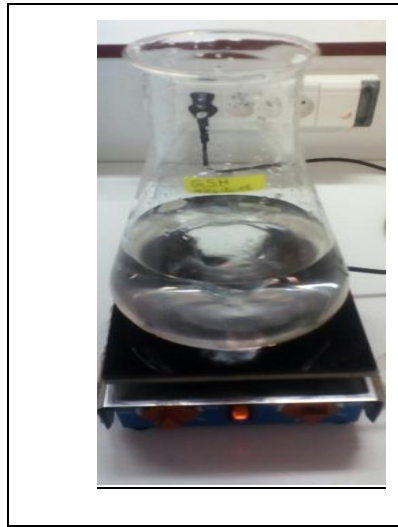
GSH (0.1mM) : 3.073mg GSH → 100ml ED

*TCA (1%) : 1g TCA dans 100ml ED

*DTNB (1.0mM) : 100mg DTNB dans 250ml de méthanol absolu

ANNEXE

5 :DosagedeGSH :



*CDNB (0.02M) : 202.55mg CDNB dans 50ml

*Solution GSH (0.1M) :153.65mg GSH —→ 50ml ED

ANNEXE

Annexes II

Préparation de l'homogénat

1: On prend (4g) de l'organe



2 :Puis on ajoute (8ml) TBS



ANNEXE

3 : broyage.



4 : Puis on fait la centrifugation → 3000t/min → 15min



ANNEXE

5: En fin on prend le surnageant dans 2 tubes



Résumé

L'objectif de ce travail est de contribuer à l'évaluation de l'hépatotoxicité d'un pesticide, la deltaméthrine sur le lapin *Oryctolagus cuniculus*, et d'étudier l'effet préventif et correcteur d'un flavonoïde, la quercétine contre cette toxicité. L'étude a porté sur les paramètres de la croissance (poids relatif, gain de poids); les paramètres biochimiques (teneur en protéines), ainsi qu'un dosage des biomarqueurs enzymatiques (GPx) et non-enzymatique (GSH et MDA) du stress oxydatif chez les lapins témoins et traités par gavage pendant 15 jours.

Nos résultats montrent que la quercétine a induit une amélioration de la fonction hépatique se manifestant par la réduction de taux de MDA et GSH. Cette prévention est associée par la restauration du GSH, et l'inhibition du MDA en tant qu'indicateur de la peroxydation lipidique. L'efficacité de la quercétine fournit la preuve que ce composé bioactif peut être développé comme un nouveau produit pour la prévention contre la toxicité hépatique à l'avenir.

Mots clés : Hépatotoxicité; Quercétine; Pyréthrianoïde; Stress oxydatif; *Oryctolagus cuniculus*

ملخص:

الهدف من هذا العمل هو المساهمة في تقييم السمية الكبدية لمبيد الحشري، [دلتامثرين] على الأرنب [*Oryctolagus cuniculus*], ومن ناحية أخرى يدرس التأثير الوقائي والتصحيحي من [فلنونويد], [كرسيتين] ضد هذه سمية. وركزت هذه الدراسة على معيار النمو (الوزن النسبي، وزيادة الوزن)؛ والمعايير البيوكيميائية (المحتوي البروتيني)، فضلا عن المعايير الانزيمية (GPx) وغير الانزيمية MDA والحيوية للاجهاد التاكسدي في الأرانب وذلك بواسطة التسمين لمدة 15 يوما.

وتبين نتائجنا ان الكرسيتين أدى إلى تحسن في الوظيفة الكبدية وذلك تجلى في انخفاض مستويات MDA وGSH. وترتبط هذه المعالجة بترميم GSH، وتثبيط الاستخدام الضوئي لل MDA كمؤشر لأكسده الدهون. وتأثير الكرسيتين يثبت أن هذا المركب النشط بيولوجيا يمكن تطويره كمنتج جديد للوقاية من السمية الكبدية في المستقبل.

الكلمات المفتاحية: السمية الكبدية. كارسيتين. (ب) بيروثرويد. الإجهاد التاكسدي

(*Oryctolagus cuniculus*)