



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



Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master
En : Science biologique
Option : Pharmacotoxicologie

Par :

M^{elle}. Berrah Takoua & M^{elle}. Boutarfa Takoua

Intitulée :

**Effet toxique d'un pesticide "deltaméthrine"
sur la glande thyroïdienne et l'effet préventif
d'un extrait d'une plante médicinale sur cette
toxicité**

Devant le jury :

Mme. Boussekine S	MCA	Université de Tébéssa	Présidente
M. Menaceur F	MCA	Université de Tébéssa	Rapporteur
M.GASMI S	MCB	Université de Tébéssa	Co-Rapporteur
Mme. Zeguib A	MCB	Université de Tébéssa	Examinatrice

Date de soutenance : 27 / 06 / 2020



Remerciement

Avant toute chose, Je tiens à remercier le bon Dieu le tout puissant de m'avoir donné la force et la patience de mener à bien ce travail.

Je remercie mon promoteur, **Dr. MENACEUR FOUAD**, pour sa patience, et surtout pour sa confiance, ses remarques et ses conseils, sa disponibilité et sa bienveillance. Ce mémoire n'aurait sans doute jamais abouti sans lui.

Mes sincères remerciements vont également à Madame : **BOUSIKINE SAMIRA** Maitre de conférence d'avoir accepté de présider le jury de ce travail. Qu'il trouve ici l'expression de mon entière reconnaissance.

Je remercie Madame **ZEGUIB ASSIA**, maitre-assistant pour sa direction, ses orientations. Qui a bien voulu me diriger et m'aider à réaliser ce travail et de m'avoir fait l'honneur de juger et d'examiner ce mémoire. Je la remercie également pour sa compréhension. Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je remercie mon co-encadreur monsieur **GESMI SALIM** pour sa patience, et surtout pour sa confiance, ses remarques et ses conseils, sa disponibilité Ce mémoire n'aurait sans doute jamais abouti sans lui



Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*A mes très chères parents, ma merveilleuse **mère**, que j'adore à en mourir qui m'a tout donné jusqu'à là.*

*Mon adorable et gentil **père** qui m'a tout donné sans rien recevoir en parallèle.
Avant tous et partout, Qui m'ont tout donné sans contrepartie.
Et qui ont été toujours pour moi dans toutes les circonstances.*

*A mes chères sœurs : **asma** et **yousra***

*A toute **ma famille***

Pour leurs compréhensions et leurs encouragements

A tous mes amies

*A mon binôme **Takoua berrah***

*A tous les étudiants de la promotion de master II **pharmaco-toxicologie***

Boutarfa Takoua



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents

*Ma mère et **mon père**, pour leurs soutient moral et leurs amours
durant toute ma vie*

*A mes frères **Youcef et Ahmed Salah** Qui trouvent ici Toute ma
gratitude pour leur soutien tout en long de mes études*

. A mes tantes et mes oncles. A mes cousins et mes cousines.

A tous mes amies

J'aimerais remercier toute l'équipe du laboratoire d'ANAPATH,
mes collègues de hôpital de bekaria Tébessa, pour leur accueil très
chaleureux et leur aide ainsi leur sympathie et gentillesse.

*A mon binôme : **boutarfa takoua***

*. A toute la promotion de **master II pharmaco toxicologie***

Berrah takoua

Résumé

L'utilisation des pesticides dans l'usage agricole ou domestique n'est pas sans impact négatif sur la santé humaine et animale. Ces produits chimiques sont connus pour être la cause des nombreuses intoxications pouvant conduire à l'apparition de graves maladies. L'objectif de notre étude est de déterminer l'effet du pesticide (deltaméthrine) et de tester l'effet de la plante médicinale (*Melissa officinalis*) sur cette toxicité, et l'effet de ce pesticide et de la plante sur l'histologie de la glande thyroïdienne et les paramètres de stress oxydatif. Les animaux ont reçu, par gavage, des doses de (0.64 mg/kg p.c.) du deltaméthrine et de (150 mg/kg p.c.) de l'extrait de la plante pendant 23 jours, par la suite, mesuré le poids des rats pour une comparaison statistique, après avoir l'évaluation des paramètres du stress oxydatif, dosage des protéines, glutathion réduit (GSH), malondialdéhyde (MDA), glutathion peroxydase (GPx) et glutathion S-transférase (GST), les résultats montrent des perturbations au niveau de la croissance générale des rats, et le pesticide DM provoque également des altérations dans le bilan de stress oxydatif qui traduit par une perturbation de taux de GSH et MDA, l'activité de Protéine, GPx, GST, après avoir les différentes étapes de préparation pour l'étude histologique, ont été observés sous microscope optique. Les résultats montrent des modifications histopathologiques chez les groupes traités au deltaméthrine. En effet les résultats illustrent clairement du thyroïde révélé par une dégénérescence des cellules de follicules thyroïdiens. Cette étude indique que la toxicité par la DM, seuls ou en mixture, pourrait endommager les cellules folliculaires de la thyroïde, et l'utilisation de l'extrait de la plante (*Melissa officinalis* L) comme protectrice contre les effets délétères des pesticides a amélioré de façon très significative le statut redox tant dans le cytosol que dans les mitochondries de la thyroïde total.

Mots clés : deltaméthrine, *Melissa officinalis*, stress oxydant, histologie, toxicité, pesticide, glande thyroïdienne, rat

Abstract

The use of pesticides in agricultural or domestic use is not without a negative impact on human and animal health. These chemicals are known to be the cause of many poisonings that can lead to the onset of serious illnesses. The objective of our study is to determine the effect of the pesticide (deltamethrin) and to test the effect of the medicinal plant (*Melissa officinalis*) on this toxicity, and the effect of this pesticide and plant on the histology of the thyroid gland and oxidative stress parameters. The animals received, by gavage, doses of (0.64 mg / kg bw) of deltamethrin and (150 mg / kg bw) of the plant extract for 23 days, then measured the weight of the rats for a statistical comparison, after having evaluated the parameters of oxidative stress, protein determination, reduced glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GPx) and glutathione S-transferase (GST), the results show disturbances at level of the general growth of rats, and the pesticide DM also causes alterations in the balance of oxidative stress which translates by a disturbance of levels of GSH and MDA, the activity of Protein, GPx, GST, after having the different stages of preparation for the histological study, were observed under an optical microscope. The results show histopathological changes in the groups treated with deltamethrin. Indeed, the results clearly illustrate the thyroid revealed by a degeneration of the cells of thyroid follicles. This study indicates that toxicity by DM, alone or in a mixture, could damage the follicular cells of the thyroid, and the use of the plant extract (*Melissa officinalis* L) as a protective agent against the harmful effects of pesticides has improved very significantly the redox status both in the cytosol and in the mitochondria of the total thyroid.

Key words: deltaméthrine, *Melissa officinalis*, , oxidative stress , histology, toxicity, pesticide, thyroid gland, rat

المخلص

استخدام المبيدات في الزراعة أو الاستخدام المنزلي لا يخلو من تأثير سلبي على صحة الإنسان والحيوان. من المعروف أن هذه المواد الكيميائية هي سبب العديد من حالات التسمم التي يمكن أن تؤدي إلى ظهور أمراض خطيرة. الهدف من دراستنا هو تحديد تأثير المبيدات الحشرية (deltamethrin) واختبار تأثير النبات الطبي (*melissa officinalis*) على هذه السمية، وتأثير هذا المبيد والنبات على الأنسجة للغدة الدرقية والأكسدة معايير الإجهاد. تلقت الحيوانات بجرعات (0.64 ملغم / كغم من وزن الجسم) من الدلتامثرين و (150 ملغم / كغم من وزن الجسم) من المستخلص النباتي لمدة 23 يوماً ، ثم قامت بقياس وزن الفئران من أجل المقارنة الإحصائية ، بعد تقييمها معلمات الإجهاد التأكسدي ، وتحديد البروتين ، وانخفاض الجلوتاثيون (GSH) ، والمالونديالدهيد (MDA) ، الجلوتاثيون بيروكسيديز (GPx) والجلوتاثيون S-ترانسفيراز (GST) ، تظهر النتائج اضطرابات على مستوى النمو العام للفئران ، ومبيدات الآفات DM يسبب أيضاً تغيرات في توازن الإجهاد التأكسدي الذي يترجم عن طريق اضطراب مستويات GSH و MDA ، لوحظ نشاط البروتين ، GST ، GPx ، بعد وجود مراحل مختلفة من التحضير للدراسة النسيجية ، تحت المجهر الضوئي. أظهرت النتائج التغيرات النسيجية في المجموعات المعالجة بالدلتامثرين. في الواقع، توضح النتائج بوضوح الغدة الدرقية التي تم الكشف عنها من خلال انحطاط خلايا بصيلات الغدة الدرقية. تشير هذه الدراسة إلى أن السمية بواسطة DM، بمفردها أو في خليط ، يمكن أن تضر بالخلايا الجريبية للغدة الدرقية ، واستخدام المستخلص النباتي (*Melissa officinalis L*) كعامل وقائي ضد الآثار الضارة للمبيدات الحشرية قد تحسن بشكل كبير حالة الأكسدة في السيتوزول وفي الميتوكوندريا من الغدة الدرقية الكلية.

الكلمات الرئيسية: بالدلتامثرين. ، ميليسا اوفسنياليس، الإجهاد التأكسدي ، الأنسجة، تسمم ، المبيدات ، الغد الدرقية ، الجرد

Table des matières

Table des matières

Table des matières	
Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
Abstract	
المخلص	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	01
Synthèse bibliographique	
Chapitre I : pesticide	
Généralité sur les pesticides :	04
1.1 Historique :	04
1.2 Définition	05
1.3 Classification	05
1.3.1 Classification chimique	06
1.3.2 Classification biologique.	06
1.3.3 Classification selon l'usage	06
1.3.4 Selon leur cible	08
1.3.5. Selon leur persistance dans l'environnement	08
1.3.6 Devenir des pesticides dans l'environnement	09
1.4 Modes d'expositions aux pesticides	09
1.5 Effets toxiques des pesticides	10
1.6 Toxicité aigüe	11
1.7 Toxicité chronique et subchronique	11
2 Les pyréthrinoïdes	12
2.1 Généralités	12

Table des matières

2.2 Classification	12
2.3 Exemple sur les pyréthrinoïdes : La deltaméthrine	13
2.3.1 Propriétés	13
2.3.2 Utilisation de la deltaméthrine :	14
2.3.3 La toxicité de la deltaméthrine	14
2.3.4 Toxicocinétique de deltaméthrine	15
2.4 Mode d'action et toxicité	16
Chapitre 02 : Plante médicinale	
1 . Les plantes médicinales	19
1.1 Les composés phénoliques	19
1.1.1 Définition	19
1.1.2 Classification des composés phénoliques	19
1.1.3 Flavonoïdes	18
2. Propriétés des polyphénols	20
2.1 Oxydation et activité antioxydante	20
2.2 Mécanismes d'oxydation	20
2.3 Mécanisme d'action des antioxydants	21
2.4 Types d'antioxydants	21
3.La mélisse (<i>Melissa officinalis</i> L)	23
3.1 Historique de la Mélisse	23
3.2 Classification	23
3.3 Description botanique	24
3.4. Habitat	25
3.5 Composition	25
3.6 Usages traditionnels	25
3.7 Principaux effets	26
Chapitre 03 : Stress oxydatif	
1. Définition du stress oxydatif	29
2. Espèces réactives oxydantes (ERO)	30
2.1. Définition	30
3.1 Formation des espèces réactives oxydantes (ERO)	31
3.1.1. ERO radicalaires	31

Table des matières

4. Rôle physiologique des espèces réactives oxydantes	33
5. Les antioxydants	34
5.1 Antioxydants enzymatiques	35
5.2 Système antioxydant non enzymatique	35
Chapitre04 : Glande thyroïdienne	
1. Généralité	38
2. Morphologie	38
2.1 Vascularisation	39
2.2 Les lymphatiques	40
2.3 L'innervation :	40
2.4 Les parathyroïdes :	40
3. Histologie	40
3.1 Les cellules folliculaires	41
3.2 Les cellules C ou parafolliculaires	41
3.3 Le colloïde	41
4. Libération des hormones thyroïdiennes	41
5. Facteur de régulation de la sécrétion des hormones thyroïdiennes	41
5.1 TRH (thyrolibérine)	41
5.2 Thyrothropine (thyroid-stimulating-hormone ou TSH):	42
5.3 Iodure	44
5.4 Autres facteurs de régulation	44
6 Distribution et métabolisme des hormones thyroïdiennes :	44
7 Régulation de la fonction thyroïdienne	44
8. Mécanismes d'action des hormones thyroïdiennes	45
Matériel et méthodes	
1. Matériel	46
1.1.1. Les animaux de laboratoire	46
1.1.2. Matériel végétal	47
1.2. Méthodologie	48
1.2.1. Séchage la plante	48
1.2.2. Extraction	48

Table des matières

1.2.3. Principe	48
1.2.4. Mode opératoire	49
1.2.5. Entretien des animaux	49
1.2.6. Mesure du poids	50
1.2.7. Choix des doses :	50
1.2.8. Traitement des rats	51
1.2.9. Sacrifice et prélèvement de la thyroïde	51
3. dosages des paramètres de stress oxydatif	54
3.1. Paramètres non enzymatiques	54
3.1.1. Dosage du Malodialdéhyde MDA	54
3.1.2. Dosage de GSH	54
3.2. Paramètres enzymatiques	55
3.2.1. Dosage de la glutathion peroxydase (GPx)	55
3.2.2. Dosage de GST	56
3.3. Paramètres métaboliques	56
3.3.1. Dosage des protéines	56
4. Etude histologique	57
4.1. Fixation et incubation	57
4.2. Déshydratation des échantillons	58
4.3. Clarification	58
4.4. Enrobage et confection des coupes	59
4.5. Coupe et étalement des échantillons	60
4.6. Déparaffinage et hydratation	60
4.7. Coloration et montage des coupes	61
4.8. Observation microscopique	63
5. Analyse statistique des résultats	63
Résultats et discussion	
1. Résultats	64
1.1 Effets de traitement sur la croissance corporelle	64
1.2 Gain de poids (GP)	65
1.3 Variation de la teneur en GSH (nmol/mg) dans les différents lots expérimentaux	66
1.4 Variation de l'activité enzymatique de GST ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$) dans les différents lots expérimentaux	67

Table des matières

1.5 Variation de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase GPx (nmol/min/mg) dans les différents lots expérimentaux	68
1.6 Variation de la teneur en MDA (nmol/mg) dans les différents lots expérimentaux	69
1.7 Variation de la teneur de protéine ($\mu\text{g}/\text{mg}$) dans les différents lots expérimentaux	70
1.8 Effet de traitement sur la thyroïde	71
2. Discussion	73
Conclusion générale et perspectives	76
Bibliographie	78
Annexes	

Introduction

INTRODUCTION

Le pesticide, encore appelés produits phytosanitaires, qualifie un groupe de substances chimiques utilisées pour la prévention, le contrôle ou l'élimination d'organismes vivants jugés nuisibles, principalement aux cultures. C'est aussi le nom de tout produit fabriqué à partir de ces substances. On les classe selon leur fonction en insecticides, fongicides, herbicides, nématicides, acaricides, rodenticides, etc. (**Djeffal, 2013**).

Les pesticides constituent un enjeu important pour la qualité de notre alimentation et de notre environnement. Ils sont aujourd'hui au cœur d'une problématique d'ordre aussi bien environnementale, avec une contamination de la faune et de la flore, que sanitaire. En effet, de leurs propriétés toxiques, les pesticides représentent un réel danger pour l'homme lorsqu'ils ne sont pas utilisés dans des conditions appropriées (**Djeffal, 2013**).

Pendant ces années récentes, l'utilisation des pesticides dans l'agriculture avait augmenté. Cette large diffusion d'utilisation des pesticides porte plus d'exposition des ouvriers agricoles et industriels aussi bien que la contamination de nourriture (**Djeffal, 2013**).

Parmi les pesticides usuels ; les insecticides que nous avons choisis d'étudier **la deltaméthrine** sont largement utilisés pour différents usages agricoles qui appartiennent respectivement aux familles des pyréthrinoïdes de deuxième génération, photo stable. Elle se présente sous la forme d'une poudre blanche thermostable jusqu'à 190°C et faiblement volatile. Elle est soluble dans les solvants organiques et sa photo stabilité est de trois à quatre semaines. (**Laurence, et al., 2002**).

Toutefois, l'utilisation intensive de ce composé a entraîné de graves problèmes environnementaux et des risques pour la santé humaine vue leur hydrosolubilité et leur toxicité élevées (**Tomlin, 2006**).

Pendant ces deux décennies, la recherche toxicologique s'est concentrée sur l'induction du stress oxydant (SO) après l'exposition aux pesticides comme mécanisme possible de la toxicité. Suite à plusieurs études, les pesticides notamment les carbamates, avec de telles propriétés, ont été montrés pour causer la surproduction d'espèces réactives oxygénées (ERO) dans les espaces intra et extracellulaires, ayant pour résultat la perturbation d'équilibre pro oxydant/antioxydant cellulaires induisant de ce fait un état de stress oxydant (**Djeffal, 2013**).

Quand la formation de ces ERO dépasse la capacité de balayage par les défenses antioxydantes, les radicaux libres nocifs s'accumulent et augmentent la probabilité des dommages oxydants aux biomolécules critiques tels que les enzymes, les protéines, les lipides membranaires et l'ADN (Djeffal, 2013).

La toxicité des carbamates est principalement due, selon Fukuto et Ecobichon (Fukuto, 1990; Ecobichon, 2001), à l'inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE), enzyme impliquée dans la régulation de la neuro-transmission, par hydrolyse du neurotransmetteur (ACh). Toutefois, des études récentes ont montré que le stress oxydant pourrait être impliqué dans le mécanisme de toxicité des carbamates. En effet, ces composés peuvent induire un stress oxydant entraînant la génération des radicaux libres et l'altération du statut antioxydant (Kamboj, et al., 2006; Maran, et al., 2009). Plusieurs organes pourraient être affectés par l'intoxication aux carbamates à savoir le cerveau (Kamboj, et al., 2006), le système reproducteur, le cœur la thyroïde (Yarsan, et al., 1999), les reins (Yarsan, et al., 1999); et le foie (Ozden, et al., 2009).

La thyroïde est une glande endocrine située respectivement à la base du larynx et le long du duodénum. La thyroïde est responsable, de la synthèse de deux hormones iodées (la T4 et la T3) qui interviennent dans toutes les fonctions vitales de l'organisme (Kress, 2007).

Les dysendocrinies thyroïdiennes sont par définition des altérations fonctionnelles de cette glande endocrine qui peuvent se traduire par un fonctionnement en hypo ou en hyper de la glande en question lorsque la sécrétion hormonale est, respectivement, diminuée ou augmentée (Vigreux, 2009).

Concernant le statut redox cellulaire, aucune étude, à notre connaissance, n'a été réalisée sur les effets protecteurs d'une plante médicinales *Melissa officinalis* chez des rats soumis à la toxicité par deltaméthrine.

C'est ainsi que nous nous sommes intéressés à entreprendre ce travail qui a pour Objectif d'étudier le stress oxydant induit par un insecticide carbamate ; le deltaméthrine chez le rat et de tester les effets modulateurs par plante médicinales *Melissa officinalis* L

- ✓ L'objectif de ce travail est d'évaluer d'un pesticide cité précédemment sur l'histologie de la thyroïde des rats wistar mâles suite à une exposition de dose sublétales par voie orale. Les résultats de l'observation anatomopathologique de ces organes permettront d'avoir un aperçu de l'action combinée de ce pesticide sur la santé humaine.

✓ L'exploration du profil du stress oxydant de la glande thyroïdienne.

Cette étude est subdivisée en deux parties essentielles, la première partie présente une synthèse bibliographique dans laquelle nous apportons un premier chapitre qui consiste à étudier des généralités sur les insecticides carbamates et leur toxicité, un second chapitre sont consacrés à l'étude de la plante médicinales ; Le troisième chapitre traite les effets du stress oxydant et les mécanismes de défense contre ce stress et le quatrième chapitre, sur L'organe thyroïde, respectivement la deuxième partie expérimentale consiste à analyser les effets préventifs de l'extrait plante médicinales *Melissa officinalis* L sur le stress oxydant induit par Le deltaméthrine au niveau de la thyroïde L'influence des différents traitements ont été analysé.

Synthèse bibliographique

Chapitre 01 : les pesticides

1. Généralité sur les pesticides

1.1 Historique

L'utilisation des pesticides en agriculture remonte à l'antiquité. L'usage du soufre paraît remonter à la Grèce antique (1000 ans avant J-C.). L'arsenic était recommandé par Pline, naturaliste romain, en tant qu'insecticide et les produits arsenicaux ou à base de plomb (Arséniate de plomb) sont connus en Chine dès le XVI^e siècle ; c'est également vers cette époque que sont signalées les propriétés insecticides du tabac et des racines de Derris et de Lonchocarpus (**Gatignol, et al., 2010**) La recherche et l'expérimentation de moyens aptes à lutter contre les maladies des céréales, de la pomme de terre et de la vigne ; ou à limiter le développement d'insectes ravageurs, ont été publiés dans des périodiques de l'agriculture du XVIII^e siècle (**Duval, 2009.**)

L'utilisation plus généralisée des pesticides a suivi les progrès de la chimie minérale. Au XIX^e siècle, les traitements fongicides sont à base de sulfate de cuivre (dont la célèbre bouillie bordelaise) ou à base de mercure ; les insecticides tels l'arsénite de cuivre, l'acétoarsénite de cuivre, l'arséniate de plomb font aussi leur apparition. Le pyrèthre, une poudre provenant de fleurs du genre chrysanthemum est introduit comme insecticide à cette même époque (**Duval, 2009.**) Autour de 1920, les insecticides arsenicaux ont vu une utilisation intense et on s'aperçut alors que les fruits et légumes traités recélaient des poisons à des doses qui pouvaient être mortelles pour les consommateurs. Ces données ont poussé les scientifiques à chercher d'autres produits moins dangereux (**Duval, 2009.**)

Ce produit domine alors marché des insecticides jusqu'au début des années 1970. La seconde guerre mondiale a généré, à travers les recherches engagées pour la mise au point de gaz de combat, la famille des organophosphorés qui, depuis 1945, a connu un développement considérable, notamment pour certains produits comme le malathion. Aux États-Unis, durant la période 1950-1955, les herbicides de la famille des urées substituées (linuron, diuron) sont développés, suivis peu après par les herbicides du groupe ammonium quaternaire et triazines. Les fongicides du type benzimidazoles et pyrimides datent de 1966, Suivis par les fongicides imidazoliques et triazoliques dits fongicides. Dans les années 1970-80, une nouvelle classe d'insecticides, les pyrèthrinoïdes apparaît, dominant le marché des insecticides (**Duval, 2009.**)

À partir des années 90, le grand nombre de produits commercialisés et les exigences réglementaires (homologation, normalisation, etc.) rendent la compétition entre les industries phytosanitaires de plus en plus sévères. Les industriels préfèrent axer leurs efforts sur la vente d'un seul produit optimisé pour un usage bien ciblé plutôt que de se lancer dans la fabrication

simultanée d'autres produits. Pour cette raison, les recherches sont actuellement de plus en plus orientées vers le perfectionnement des méthodes d'analyse de résidus pour la surveillance et le contrôle de la qualité des eaux et des aliments, à la protection et à la réhabilitation de l'environnement et des ressources naturelles (**Gatignol, et al., 2010**).

1.2 Définition

Les pesticides constituent un enjeu important pour la qualité de notre alimentation et de notre environnement leur utilisation dans les secteurs de la production agricole a pour but de prévenir ou de réduire les pertes causées par les ravageurs et peut donc améliorer le rendement ainsi que la qualité du produit et la valeur nutritionnelle des aliments (**Oerke, et al., 2004; Cooper, et al., 2007**) La plupart de ces pesticides présentent un degré élevé de toxicité car ils sont conçus pour tuer certains organismes et de ce fait créer ainsi un risque de dommage (**Power, 2010**). Dans ce contexte, l'utilisation des pesticides a soulevé de sérieuses préoccupations non seulement pour leurs effets potentiels sur la santé humaine, mais aussi sur la faune et l'écosystème (**Asogwa, et al., 2009**) Malgré de nombreuses études sur la toxicité et le devenir des pesticides, il y a encore des lacunes dans la recherche, ce qui provoque des incertitudes dans la prédiction de leurs effets à long terme sur la santé et l'environnement (**Damalas DA; Eleftherohorinos IG, 2011**).

Le vocable pesticide regroupe à la fois les produits Phytopharmaceutiques destinés à un usage agricole et les biocides anciennement dénommés pesticides à usage non agricole (**Even, et al., 2002**) qui désignent également une substance active ou une préparation commerciale constituée d'une ou plusieurs substances actives (**Vigourou, 2006**) La substance active (anciennement appelée matière active) est la substance ou le microorganisme qui détruit ou empêche l'agent nuisible pour la culture de s'installer ou de se développer (**Camard, 2010**) .

1.3 Classification

Les pesticides disponibles aujourd'hui sur le marché sont caractérisés par une telle variété de structure chimique, de groupes fonctionnels et d'activité que leur classification est complexe (tableau 01). D'une manière générale, ils peuvent être classés en fonction de la nature de l'espèce à combattre mais aussi en fonction de la nature chimique de la principale substance active majoritaire qui les compose (**Merhi, 2008**) .

1.3.1. Classification chimique

a) Les pesticides inorganiques

Ils sont peu nombreux mais certains sont utilisés en très grande quantité comme le soufre ou le cuivre. Ce sont des pesticides très anciens dont l'emploi est apparu bien avant la chimie organique de synthèse. De cette époque ne subsiste qu'un seul herbicide employé en tant que désherbant total (chlorate de sodium) et quelques fongicides à base de soufre et cuivre comme la bouillie bordelaise (**Fillatre, 2011**).

b) Les pesticides organométalliques

Ce sont des fongicides dont la molécule est constituée par un complexe fait d'un métal comme le zinc ou le manganèse et d'un anion organique dithiocarbamate (exemple : Mancozèbe avec le zinc, manèbe avec le manganèse) (**Fillatre, 2011**).

c) Les pesticides organiques

Ils sont très nombreux et appartiennent à diverses familles chimiques (**Tomlin, 2006**) existe actuellement plus de 80 familles ou classes chimiques dont les plus connues sont :

Les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyrèthrinoides, les triazines, les benzimidazoles et d'autres groupes (tels que le dérivé dipiridiniques, organomercurels, Organocincades, fenoxo-acétiques, pyrèthrines et les dérivés triaziniques) (**Bazzi, 2010**)

1.3.2 Classification biologique.

En se basant sur le deuxième critère qui est l'action sur le parasite, les pesticides sont classés en : insecticides, acaricides, fongicides, antibiotiques à usage agricole, herbicides, molluscicides, rodenticides, nématicides, corvicides (**EL Bakouri, 2006; Bazzi, 2010**).

1.3.3. Classification selon l'usage

Les pesticides sont utilisés dans plusieurs domaines d'activités pour lutter contre des organismes vivants nuisibles. Il existe six catégories de pesticides selon leur destination de traitement, à savoir : les cultures, les bâtiments d'élevage, les locaux de stockage des produits végétaux, les zones non agricoles, les bâtiments d'habitation, l'homme et les animaux.

L'agriculture est de loin l'activité la plus consommatrice de pesticides. L'usage non agricole ne représente en effet que 12% du marché global (**Fillatre, 2011**).

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

Groupe	Classe chimique	Exemples de molécules
Antiparasitaire (Insecticides et Anticoccidiens)	Insecticides Minéraux	Arséniate de plomb, fluorure d'aluminium, Composés soufrés mercuriques, sélénisés
	Organochlorés	DDT HCH dont le lindane
	Organophosphorés	Dichlorvos, chlorfenvinphos, phorate
	Carbamates	Aldicarbe, carbofuran, carbaryl, benfuracarbe,
	Pyréthroïdes	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

1.3.4. Selon leur cible

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

1.3.5. Selon leur persistance dans l'environnement

Les pesticides sont classés en deux types principaux

✓ Les pesticides conservatifs (persistants)

Qui ne sont pas éliminés du milieu, qu'ils soient dissous dans l'eau ou fixes sur le matériel particulaire. Ce sont des pesticides organiques non biodégradables (Belhaouchet, 2014).

La classification de Polluants Organiques Persistants (POPs) regroupe tous ces polluants conservatifs tels que les HAPs, PCBs, dioxines, furans, dieldrine, chlordane, DDT, HCH, HCB, lindane, endrine, aldrine, Mirex, toxaphene, chlordeone, heptachlore. La production et l'utilisation de ces pesticides ne sont pas autorisées par plusieurs conventions internationales à cause de leur risque sur l'homme et l'environnement (Toumi, 2013; Utip, et al., 2013; Ademe, 2004).

✓ Les pesticides non conservatifs (non persistants)

Qui à terme, disparaissent dans peu de temps à cause de leur biodégradabilité rapide tels que certains OP, pyréthriinoïdes, néonicotinoïdes et biopesticides (Belhaouchet, 2014).

1.3.6. Devenir des pesticides dans l'environnement

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

réponses mécanistiques limitant les effets toxiques des contaminants en protégeant les cellules et en facilitant leur excrétion. Bien que les mécanismes de défense cellulaire soient actuellement mieux connus, il est cependant nécessaire de les approfondir en raison notamment des interactions existantes entre les xénobiotiques présents simultanément dans le même milieu (Testud, et al., 2007; Guler, et al., 2010).

1.4. Modes d'expositions aux pesticides

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

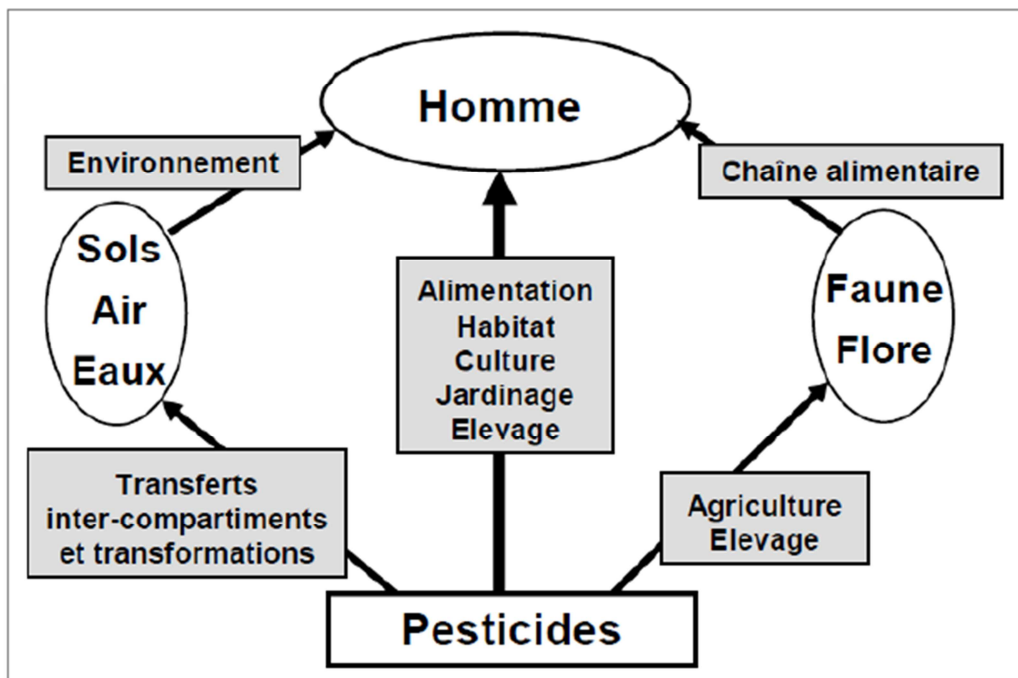


Figure 01. Modes d'exposition des organismes vivant aux pesticides (Barriuso, 2004)

1.5 Effets toxiques des pesticides

Quel que soit leur rang taxonomique, les êtres vivants ont divers processus et mécanismes physiologiques en commun. Ce qui fait que les pesticides ont un pouvoir de toxicité envers les organismes non ciblés tel que l'Homme (**Baldi, et al., 2013**).

Certaines substances sont rapidement éliminées par différentes voies, provoquant une toxicité aiguë, et d'autres peuvent s'accumuler dans l'organisme, ce qui peut conduire à l'apparition d'effets toxiques à long terme (**Tron, et al., 2001**).

Selon l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), les facteurs influant sur la toxicité des pesticides pour l'homme sont : la dose, la voie d'exposition, le degré d'absorption, les effets de la matière active ainsi que ses métabolites, l'accumulation et la persistance du produit dans l'organisme. L'état de santé de la personne exposée est aussi un facteur influençant la toxicité du pesticide (**Tron, et al., 2001**).

1.6 Toxicité aiguë

La littérature décrivant l'effet aiguë des pesticides note principalement : des brûlures Chimiques au niveau oculaire, des lésions cutanées, des troubles au niveau du foie et des effets neurologiques. Une forte intoxication peut conduire à de graves effets pouvant aller jusqu'à la mort chez certains individus, alors que pour d'autres seuls des symptômes biochimiques pouvaient témoigner l'intoxication (**Benzaim, 2019**).

1.7 Toxicité chronique et subchronique

La majorité des effets chroniques et sub-chroniques apparaissent après des expositions répétées à de faibles doses de pesticides dans l'organisme (**Benzaim, 2019**). Les troubles neurologiques, les troubles de la reproduction, les altérations du développement et les cancers font partie des pathologies les plus étudiées pour démontrer les effets chroniques des pesticides sur l'être humain. Cependant d'autres effets ont été répertoriés tel que l'effet mutagène (**Baldi, et al., 2013**).

2. Les pyréthriinoïdes

2.1 Généralités

Les pyréthrines sont connues depuis 2000 ans. En effet, la littérature chinoise mentionne l'utilisation d'insecticides d'origine végétale par les chinois depuis le 1ersiècle après Jésus Chris. En 1973, la découverte d'une nouvelle série de pyréthrines synthétiques « les pyréthriinoïdes » doués d'une photostabilité sensiblement accrue et d'un large spectre d'efficacité permettant une utilisation agricole et même vétérinaire de ces Pyréthriinoïdes (**Testud, et al., 2007**). En 1973, la découverte d'une nouvelle série de pyréthrines synthétiques « les pyréthriinoïdes » doués d'une photostabilité sensiblement accrue et d'un large spectre d'efficacité permettant une utilisation agricole et même vétérinaire de ces pyréthriinoïdes (**Gasmi, 2018**) . Les Pyréthriinoïdes sont des insecticides utilisés pour lutter contre les parasites des grandes cultures (arachide, betterave, canne à sucre, céréales, pomme de terre, coton, mil) et contre les parasites des arbres fruitiers et les légumes (**Toumi, 2013**).

2.2 Classification

Les pyréthriinoïdes sont classés en deux catégories en fonction de la présence ou non d'un radical cyanide. Ainsi, les pyréthriinoïdes de type I (Alléthrine, Tétraméthrine,) sont dépourvus du radical cyanide alors que les pyréthriinoïdes de type II (**deltaméthrine**, Cyperméthrine) portent le radical cyanide ((**Testud, et al., 2007**) . L'activité insecticide des pyréthriinoïdes dépend par ailleurs de la stéréochimie de la molécule. Ainsi les pyréthriinoïdes ayant une conformation en 1R ou 2S ont une activité insecticide alors que les pyréthriinoïdes en 1S ou 2R n'en ont pas. De même, les isomères cis sont en général plus toxiques que les isomères Trans (**Bradberry, et al., 2005**).

2.3 Exemple sur les pyréthriinoïdes : La deltaméthrine

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

La deltaméthrine (voir figure 2 pour la structure de la molécule). Est un pyréthriinoïde de deuxième génération, photostable. Elle se présente sous la forme d'une poudre blanche thermostable jusqu'à 190°C et faiblement volatile. Elle est soluble dans les solvants organiques et sa photostabilité est de trois à quatre semaines.

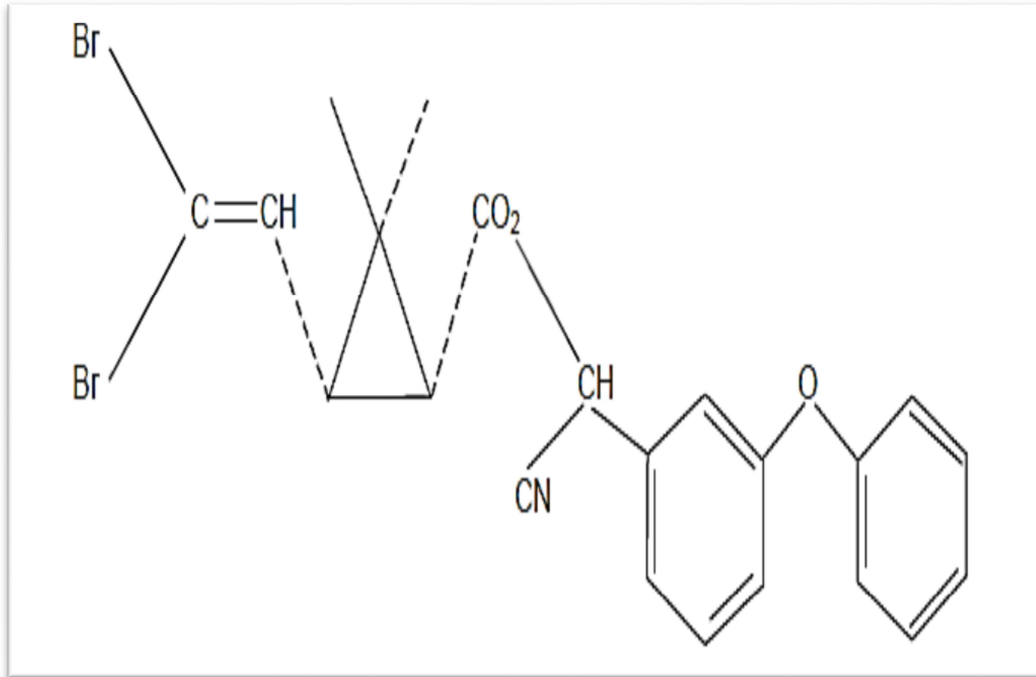


Figure02 : Structure de la molécule de deltaméthrine (C₂₂H₁₉Br₂NO₃) (Laurence, et al., 2002)

2.3.1 Propriétés

La deltaméthrine est caractérisée par les paramètres physicochimiques et toxicologiques résumés dans le **tableau 02** si après.

Tableau 02 : Principales propriétés physico-chimiques et toxicologiques de la deltaméthrine (Toumi, 2013).

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

2.3.2 Utilisation de la deltaméthrine :

La deltaméthrine est utilisée dans de nombreux domaines comme celui de la protection des cultures (vignes, cultures maraîchères, vergers, coton, colza, tabac) ; on l'utilise également dans l'hygiène publique en usage domestique contre les mouches, moustiques et blattes (peintures, papiers peints...). Enfin elle permet la destruction de nombreux vecteurs de grandes endémies telles la dengue, le paludisme, l'onchocercose et bien sûr les trypanosomoses. (Laurence, et al., 2002) L'efficacité de la deltaméthrine dans la lutte contre les glossines n'est plus à démontrer nous l'utiliserons donc comme témoin positif dans notre étude (Laurence, et al., 2002)

2.3.3 La toxicité de la deltaméthrine

La toxicité de la deltaméthrine envers les mammifères est faible (le **tableau 4** ci-dessous donne à titre indicatif les DL50 chez le rat). La molécule de deltaméthrine est dégradée rapidement même si elle peut parfois être stockée dans la graisse et donc être éliminée plus lentement. (Laurence, et al., 2002).

Tableau 3. Toxicité de la deltaméthrine chez le rat (Laurence, et al., 2002) .

Toxicité de la deltaméthrine		
DL50 par voie orale chez le rat	DL50 par voie percutanée chez le rat	DL50 par inhalation (4h) chez le rat
135 à 5000mg/kg	>2000mg/kg	2.2mg/l

A moyen et long terme il n'y a donc pas d'effet toxique majeur. Une irritation des muqueuses et de la peau est possible si des précautions ne sont pas prises lors de l'utilisation de l'insecticide. Par voie orale une symptomatologie classique (par action sur le système nerveux) est observée : troubles digestifs, contractions musculaires... Aucun pouvoir tératogène, mutagène ou cancérigène n'a pu être mis en évidence (Laurence, et al., 2002).

La deltaméthrine a donc une large sécurité d'emploi grâce aux transformations métaboliques rapides subies chez les mammifères contrairement à ce qui se passe chez les insectes. On peut renforcer cette sécurité en utilisant des formulations particulières qui ne modifient pas l'activité insecticide. **(Laurence, et al., 2002).**

2.3.4 Toxicocinétique de deltaméthrine

➤ Absorption

La deltaméthrine est une molécule lipophile, peu soluble dans l'eau, pouvant être absorbée principalement par voie orale, et secondairement par voie cutanée ou encore par inhalation **(Utip, et al., 2013)** Le taux d'absorption de la deltaméthrine par voie orale n'est pas précisément connu ; on peut cependant considérer qu'il est important, de l'ordre de 90 %. Le taux d'absorption par inhalation est probablement faible et même par voie cutanée qui est de l'ordre de 3,6 % chez le rat.

➤ Distribution

Des études chez les animaux de laboratoires montrent qu'après ingestion, la deltaméthrine se distribue dans les différents tissus de l'organisme, avec une concentration légèrement plus importante dans les graisses (demi-vie de 7 à 9 jours). Le pic plasmatique apparaît 1 à 2 heures après l'administration de la deltaméthrine par voie orale et reste détectable jusqu'à 48 heures. Elle passe dans le lait en faibles proportions (demi-vie estimée à 1 jour). **(IPCS, 1990).**

➤ Métabolisme

La deltaméthrine est métabolisée en composés non toxiques par oxydation, par hydrolyse de la fonction ester et par conversion du groupement cyano en thiocyanate. Chez l'homme, elle est rapidement métabolisée au niveau hépatique avec formation d'acide 3-phénoxybenzoïque, d'acide décamétrique (ou acide cis-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-diméthyl-cyclopropane-1-carboxylique ou cis-Br₂CA). Les métabolites oxydés sont ensuite sulfo- ou gluco-conjugués, facilitant ainsi leur élimination dans les urines **(IPCS, 1990)**.

➤ Élimination

La deltaméthrine est éliminée de façon sensiblement équivalente, par les urines et les fèces chez le rat et la souris. Chez l'homme, l'élimination urinaire représente entre 51 et 59 % de la dose absorbée ; l'élimination fécale de 10 à 26 %. La deltaméthrine peut être éliminée soit sous forme de 3-PBA, de cis-Br₂CA, soit sous forme inchangée. La demi-vie d'élimination varie entre 10 et 13,5 heures **(IPCS, 1990; Shivanoor, 2014).**

2.4 Mode d'action et toxicité

Le mode d'action des pyréthriinoïdes (voir le tableau 4 qui suit) est complexe et encore imparfaitement élucidé (CARLE, 1985) Comme les autres pyréthriinoïdes cet insecticide entraîne un dysfonctionnement des canaux sodium. Les sites d'action concernent aussi bien le système nerveux central que périphérique. Les effets neurotoxiques et neuro-hormonaux additionnés entraînent certainement des déséquilibres ioniques susceptibles de modifier les activités des ATPases membranaires qui finissent par conduire à la mort (Laurence, et al., 2002) .

Tableau. 4. Mode d'action des pyréthriinoïdes (CARLE, 1985)

Types d'action	Site	Mécanisme physiologique	Effets
Systèmes neuraux	Ionophores Na+ ATPases	Modification des courants ioniques	Blocage ou activité répétitive
Niveaux membranaire	Na+/K+ dépendant Ca ⁺⁺ /Mg ⁺⁺ dépendant	Inhibition d'activité	Épuisement énergétique
Niveaux synaptique	-Récepteurs de l'acide kaïnique postsynaptiques présynaptiques	-Épuisement énergétique cellulaire	-Libération d'acides aminés excitateurs endogènes
	-Récepteurs de l'acide kaïnique postsynaptiques présynaptiques	-Épuisement énergétique cellulaire	-Inhibition d'entrée des ions Ca ⁺⁺
	-Récepteurs nicotiniques	-Modification des courants ioniques	-Blocage neuromusculaire
Niveau Neuro- hormonal	Ionophores Ca ⁺⁺ Ionophores Na	Modification des courants ioniques	Libération de neurohormones

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

*Chapitre 02 : Plante
médicinale*

1. Les plantes médicinales

1.1 Les composés phénoliques

1.1.1 Définition

Les polyphénols naturels sont des métabolites secondaires, ils n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités principales de l'organisme végétal (**Gurgnard, 2000**). Les polyphénols sont des composés organiques qui possèdent un ou plusieurs noyaux aromatiques, aux quels sont attachés un ou plusieurs groupements hydroxyles (**Bruneton, 1993**).

1.1.2 Classification des composés phénoliques

Il existe environ 8000 composés phénoliques, allant de molécules à bas poids moléculaire d'autres hautement polymérisés. Ils peuvent être liés à un ou plusieurs résidus sucrés ou ils peuvent être liés avec d'autres composés chimiques, tel que les acides carboxyliques, les amines ou les lipides (**Martin, et al., 2002**).

- **Les acides phénoliques** : Les acides phénoliques englobent les dérivés de l'acide benzoïque, dont l'acide gallique est le représentant principal (constitués d'un squelette à sept carbones) suivis des dérivés d'esters hydroxycinamiques (constitués d'une structure de type C6-C3 (**Barboni, 2006**)).
- **Les acides benzoïques** : Les acides benzoïques présentent un aspect squelettique à sept atomes de carbones. Ils sont représentés par les acides p-hydroxy benzoïques, acides galliques, acides vanilliques, acides syringiques, acides salicyliques, acides protocatéchiques, et les acides gentisiques (**Ribereau-Gayon, 1968**). Ils peuvent être combinés aux sucres ou aux acides organiques par des combinaisons généralement de type ester, dont ils sont libérés par hydrolyse alcaline (**Ribereau-Gayon, et al., 1972**).
- **Les acides cinnamiques** : Sont des acides à structure de type C6-C3. Les composés les plus fréquents soient l'acide p-coumarique, l'acide caféique et l'acide fertarique (**Ribereau-Gayon, 1968**).

1.1.3 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans le règne végétal. Ce sont des pigments responsables de coloration jaune, orange et rouge de différents organes de végétaux. Ils sont rencontrés dans les fruits, légumes, les boissons (vin rouge, thé, café) et plusieurs plantes médicinales (**Ghedira, 2005**). Caractérisés par la présence du noyau flavon, les flavonoïdes sont des composés à deux cycles benzoïques reliés par un cycle pyrone (oxygène

contenu au niveau d'une pyranne) (**Rice-Evans, et al., 1996**). A l'état naturel, les flavonoïdes se trouvent généralement sous forme de glycosides. L'aglycone est cependant la partie non sucre. L'ensemble des flavanols, flavones, flavanones, isoflavones et des anthocianes constituent la grande famille des flavonoïdes.

2- Propriétés des polyphénols

2.1. Oxydation et activité antioxydante

Les propriétés des antioxydants découlent de la présence des noyaux aromatiques, à doubles liaisons conjuguées et les groupements hydroxyles permettant le piégeage des radicaux libres (**Knert, et al., 2002**). Ils permettent de maintenir la qualité du produit et d'augmenter la durée de conservation de ce dernier. Ils peuvent retarder la peroxydation des lipides et de minimiser efficacement les rancissements. L'antioxydant naturel doit être efficace à faible dose, non toxique, soluble dans les graisses et stable dans le produit fini (**Poknory, et al., 2001**).

2.2. Mécanismes d'oxydation

L'oxydation des lipides peut se faire par plusieurs voies :

- ✓ La photo-oxydation initiée par la lumière.
- ✓ L'auto-oxydation catalysée par la température, les ions métalliques et les radicaux libres.

a/-Auto-oxydation

L'oxydation des lipides est une réaction autocatalytique. Une réaction est dite d'initiation est celle produisant un radical libre par élimination d'hydrogène de l'acide gras, les réactions s'enchainent ensuite pour produire plusieurs radicaux libres, ces par combinaison entre eux, forment des composés non radicalaires.

b/-Photo-oxydation

La photo-oxydation produit des hydroperoxydes en présence d'oxygène, d'énergie lumineuse et de photo sensibilisateurs (**Hultin, 1992**).

c/-Voie enzymatique

La lipoxygénase catalyse l'insertion d'une molécule d'oxygène sur un acide gras insaturé qui aboutit à la formation d'hydroperoxyde. Elle agit sur les acides gras non estérifiés. Son activité est souvent couplée avec celle des lipases et des phospholipases (**Eymard, 2003**).

2.3. Mécanisme d'action des antioxydants

D'une manière générale, en s'oxydant lui-même plus rapidement qu'un autre, un antioxydant pourra empêcher l'oxydation d'un autre substrat. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atomes d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques, cas des dérivés du phénol. Les antioxydants interviennent en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un autre acide gras (**Berset, et al., 1996**).

2.4. Types d'antioxydants

Les antioxydants sont classés soit en fonction de leur origine, ce qui donne les naturels ou les synthétiques, si non selon leur mode d'action en primaires ou en secondaires.

- **Antioxydants synthétiques** : Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), la gallate propylée (PG) et le tetra-butylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés pour leurs efficacités et leurs coûts réduits, comparés aux antioxydants naturels. Cependant, leurs sécurités est très discutée en ce qui concerne leur substitution aux antioxydants naturelles, en particulier ceux utilisés dans la nourriture (**Lisu, et al., 2003**).
- **Antioxydants naturels** : Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydantes in vivo. Tout en inclut le bêta carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E, etc. Ils peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité, elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (**Svoboda, et al., 1999**).
- **Antioxydants synergistes** : Ce sont des substances qui ne sont guère actives en tant qu'antioxydants, et dont les propriétés apparaissent surtout en présence d'autres antioxydants. Il en est ainsi des lécithines, des acides citrique et tartrique, des acides

aminés (lysine et arginine) de certains flavonoïdes. Leurs propriétés peuvent s'expliquer par un effet chélatant de métaux dont le fer et le cuivre aux effets pro-oxydants à faibles doses. Certains produits ont un effet inhibiteur de la décomposition des hydroperoxydes, et d'autres semblent régénérer des antioxydants, comme les tocophérols ou les dérivés de l'acide ascorbique à partir de leurs formes oxydées (**Morelle, 1988**).

- **Antioxydants primaires** : Ils englobent les composés qui interfèrent avec l'oxydation lipidique tout en convertissant les produits d'oxydation de ces derniers ($L\bullet$, $LOO\bullet$, $LO\bullet$) en produits plus stables (LH, LOOH, LOH) cette démarche est assurée grâce à leurs propriétés de donneurs de protons actifs. Le radical ($A\bullet$) dérivé de l'antioxydant se convertit en produit stable (**Kim, et al., 2004**).
- **Antioxydants secondaires** : Gordon en (1990) avant cité que les antioxydants secondaires sont des composés qui retardent l'oxydation lipidique selon différents modes d'action :
 - Absorption des radiations ultraviolettes ;
 - Inactivation de l'oxygène singlet ;
 - Chélation des métaux ;
 - Décomposition des hydroperoxydes (**Hazzit, 2008**)

3. La mélisse (*Melissa officinalis* L)

3.1 Historique de la Mélisse

L'extrait sec de feuilles de Melisse (*Melissa officinalis*) ou les feuilles de Mélisse séchées sont utilisés dans les médicaments ou les compléments alimentaires L'huile essentielle extraite peut aussi être employée. On connaît La Mélisse depuis la Grèce antique. Les feuilles de cette plante ont été utilisées par Théophraste (372 - 287 av. J.-C.) et Hippocrate (460 – 377 av. J.-C.), dans la digestion et pour diminuer la nervosité des dépressifs (Wichtl, et al., 1999). On produisait l'Eau de mélisse des Carmes Boyer® depuis 1611. Il s'agit d'une solution à base d'alcool plus de la Mélisse et avec aussi neuf épices et treize autres plantes.

Cette solution présente d'innombrables vertus comme faciliter la digestion et apaiser le mal des transports, diminuer le stress et la fatigue. Plusieurs médicaments aujourd'hui contiennent de la Mélisse officinale qui peuvent être administrés par voie orale. Traditionnellement, on utilise la Mélisse dans le traitement symptomatique des troubles digestifs (digestion lente, ballonnement épigastrique et flatulences) et dans le traitement symptomatique des états neurotoniques (Afssaps, 1998) . *Melissa officinalis* fait partie de la liste des 34 plantes sorties du monopole pharmaceutique à la suite du décret 79-480 du 15 juin 1979. Inscrite aussi à la Pharmacopée française pour ses feuilles et ses sommités fleuries

3.2 Classification

Tableau 05. Classification de la *mélisse officinalis*.

Règne	Plantea
Ordre	Lamiales
Embranchement	Spermaphytes
Sous- embranchement	Angiospermes
Famille	Lamiacées
Classe	Eudicotylédones
Sous- classe	Astéridées,
Genre	Melissa
Espèce	<i>Melissa officinalis</i> L

On note trois espèces : *officinalis*, *inodora* et *altissima*. L'espèce *officinalis* est la plus utilisée en thérapeutique (Carnat, et al., 1998).

Nom botanique : *Melissa officinalis* L.

Nom français : Mélisse *officinale*

Nom anglais : Lemon balm



Figure 03. *Melissa officinalis* L. (Kothe, 2007).

3.3 Description botanique

Très recherchée par les abeilles, le nom de la Mélisse officinale (*Melissa officinalis*) vient du grec melissophullon qui signifie « feuille à abeilles ». C'est une plante médicinale et aromatique (Kothe, 2007).

La Mélisse possède une tige carrée mesurant le plus souvent entre 30 et 80 centimètres de haut, ramifiée, dressée et poussant en touffes (Thoby, 2009).

C'est une plante également herbacée vivace de la famille des Lamiacées avec des feuilles à l'odeur et la saveur citronnées (Kothe, 2007).

Le fruit est un tétrakène contenant de petites graines brunes, foncées et luisantes. La Mélisse officinale peut parfois, notamment si elle est cueillie à l'état sauvage, être confondue avec d'autres plantes (Wichtl, et al., 1999).

3.4. Habitat

On rencontre la Mélisse à l'état sauvage dans l'Amérique du nord, le sud de l'Europe et en Asie mineure dans des endroits tels qu'un bois, le bord d'une haie, ou un lieu non cultivé et frais (Wichtl, et al., 1999).

On la cultive aux Etats-Unis, en Europe occidentale et centrale (OMS , 1999). Plante d'origine méditerranéenne, rencontrée en Algérie, elle pousse dans les lieux chauds.

3.5 Composition

L'huile essentielle (HE) (jusqu'à 0,8 %), contenant des aldéhydes monoterpéniques à odeur citronnée (géranial, néral et citronellal), des dérivés hydroxycoumariniques comme l'esculétine, des dérivés de l'acide hydroxycinnamique (4 à 7 %) aussi appelés « tanins des Lamiacées », dont le principal est l'acide rosmarinique (AR), des acides tri terpéniques (acides ursolique et oléanolique) et des flavonoïdes (hétérosides de lutéoline, d'apigénine, de quercétine, de kaempférol)

La Pharmacopée européenne exige que la feuille de Mélisse séchée doive contenir au minimum 4 % de dérivés hydroxycinnamiques totaux exprimés en l'acide rosmarinique. Ce composé phénolique est indiqué pour le traitement des affections cutanées comme l'herpès labial (Herpès simplex) grâce à ses propriétés anti oxydantes et antivirales. La Mélisse officinale constitue une source naturelle majeure d'AR par sa teneur élevée (4–7 % des feuilles sèches) par comparaison aux autres lamiacées (Wichtl, et al., 1999).

3.6 Usages traditionnels

• Cette plante est utilisée pour guérir les blessures, calmer les dents et apaiser les palpitations. Elle a un effet bénéfique sur le moral. Son utilisation accroît longévité. (Wichtl, et al., 1999).

- **Plante relaxante :** La Mélisse est une plante relaxante en cas de nervosité d'anxiété, d'irritabilité et de dépression légère. Elle apaise les palpitations cardiaques d'origine nerveuse et elle diminue l'émotivité. On recommande La Mélisse lorsque l'anxiété provoque des troubles digestifs tels que les ballonnements, les indigestions, les coliques, les nausées et l'acidité (Wichtl, et al., 1999).
- **Herpès :** La Mélisse diminue la fréquence du virus et élimine ses éruptions. (Wichtl, et al., 1999).
- **Une plante hormonale :** La Mélisse calme l'hyperexcitabilité due aux problèmes de la thyroïde. (Wichtl, et al., 1999).

- **Autres usages** : On emploie la Mélisse pour soigner les piqûres d'insectes, les coupures et dans la fièvre (**Wichtl, et al., 1999**).

3.7 Principaux effets

- ✓ Antiviral
- ✓ Tonique nerveux
- ✓ Antispasmodique
- ✓ Relaxant
- ✓ Favorise l'évacuation des gaz
- ✓ Stimule la transpiration (**Wichtl, et al., 1999**).

*Chapitre 03 : Stress
oxydatif*

1. Définition du stress oxydatif

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



Figure 04. Balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (**Faivre, et al., 2006**).

Pour éviter les conséquences du stress oxydant, il est obligatoire de rétablir l'équilibre oxydant /antioxydant de l'organisme dont les antioxydants, sont des substances naturelles produites par le corps ou bien apportées par l'alimentation qui retardent, empêchent ou réparent les dégâts oxydatifs (**Halliwel, et al., 2008**).

2. Espèces réactives oxydantes (ERO)

2.1. Définition

✓ **Un radical libre (RL) :** est une entité chimique (atome, molécule ou fragment de molécule) capable d'exister sous forme indépendante, contenant au moins un électron célibataire ou non apparié sur sa couche électronique externe (ou contenant deux électrons de même spin dans une case quantique), ce qui augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation (**Bonnefont, et al., 2003; Finaud, et al., 2006**). Sa durée de vie est très courte (quelques millisecondes voir quelque nanosecondes) et il est symbolisé par un point qui indique où l'électron libre se situe (**Goto, et al., 2008**).

Les radicaux libres peuvent être formés par trois procédés :

1. Addition d'un électron libre à un non radical ($\text{NR} + e^- \rightarrow \text{R}^\cdot$).
2. Perte d'un électron par un non radical ($\text{NR} - e^- \rightarrow \text{R}^\cdot$).
3. Scission homolytique d'une liaison covalente ($\text{A} : \text{B} \rightarrow \text{A}^\cdot + \text{B}^\cdot$)

(**Bonnefont, et al., 2003**).

Il existe majoritairement deux grandes familles d'espèces réactives :

✓ **Les espèces réactives oxygénées (ERO ou ROS Réactive Oxygène Species)**

Également désignées dans la littérature de dérivés réactifs de l'oxygène ou d'espèces réactives de l'oxygène peuvent être définies comme des molécules qui contiennent de l'oxygène mais qui sont plus réactives que l'oxygène présent dans l'air. Les ERO incluent les radicaux libres comme l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$) et le radical hydroxyle ($\cdot\text{OH}$) et des composés réactifs oxydants non radicalaires (sans électrons libres dans leur couche externe) comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) et l'ozone (O_3).

✓ **Les espèces réactives azotées (ERA ou RNS Réactive Nitrogen Species)**

Ont été définies comme un sous-groupe d'oxydants dérivés de l'oxyde nitrique ou monoxyde d'azote ($\cdot\text{NO}$). Ceci a poussé certains auteurs à parler de RONS (Reactive Oxygen and Nitrogen Species) au lieu de ROS pour désigner l'ensemble des espèces réactives oxydantes radicalaires ou non radicalaires (**Mac Laren, 2007**). Que nous désignons par l'abréviation ERO.

Tableau06. Principales espèces réactives oxydantes (ERO) organiques.

ERO	Abréviation
Espèces oxygénées actives	EOA
Radical (ion) superoxyde	O ₂ •-
Radical hydroperoxyde	HO ₂ •
Peroxyde d'hydrogène	H ₂ O ₂
Radical hydroxyle	•OH
Singulet oxygène	1O ₂
Ozone	O ₃
Espèces azotées actives	EAA
Oxyde Nitrique	NO
Dioxyde d'azote	NO ₂
Peroxynitrite	ONOO•

3.1. Formation des espèces réactives oxydantes (ERO)

3.1.1. ERO radicalaires

a) L'anion superoxyde (O₂•-)

C'est l'une des premières ERO à être formées, l'espèce la plus couramment générée par la cellule ; l'anion superoxyde (O₂•-) peut provenir de plusieurs sources cellulaires. Il est formé après réduction d'une molécule d'O₂ par un électron et en présence d'un cofacteur NADPH. Les différentes enzymes permettant cette réaction sont : la NADPH oxydase, la xanthine oxydase, les cyclo-oxygénases ou COX, les lipo-oxygénases, les oxyde nitrique synthases NOS (Nitric Oxyde Synthases), les enzymes du réticulum endoplasmique lisse (cytochrome P450) et celles de la chaîne de transport des électrons dans la mitochondrie (Cai, 2000).

B) Le radical hydroxyle (HO•)

Le radical hydroxyle (HO•) peut être induit par la réduction de l'H₂O₂ selon la réaction d'Haber-Weiss engendrant alors un ion OH⁻ inoffensif et un radical hydroxyle HO•.



Cette réaction est lente et probablement inopérante dans les tissus vivants. Mais en revanche, en présence de métaux de transition (fer, cuivre), l'H₂O₂ donne naissance *in vivo* via la réaction de Fenton à un radical hydroxyle HO• hautement réactif.



Il est certainement l'ERO la plus destructrice pour la cellule et ses composants. Malgré une durée de vie très brève et l'impossibilité pour lui de franchir les membranes, il possède une très grande réactivité liée à un potentiel oxydant très élevé (**Bonnefont , et al., 2003**).

C) L'oxyde nitrique (NO•)

L'oxyde nitrique est un gaz qui ainsi diffuse bien à travers les membranes. Il est synthétisé par l'enzyme oxyde nitrique synthase (NOS) à partir de l'O₂ et l'acide aminé L'arginine. Il n'est vraiment délétère pour la cellule que lorsqu'il est présent en quantité importante et qu'il génère ainsi une autre ERO : le peroxyde nitrite NO₃ (**Bonnefont , et al., 2003**)

D) Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) est une molécule stable, mais diffusible et avec une durée de vie compatible avec une action à distance de son lieu de production. Il est généré dans le peroxydosome, les microsomes et les mitochondries par une réaction de dismutation (**Ramirez, et al., 2008**).



La dismutation de O₂^{•-} spontanée ou catalysée par les superoxydes dismutases est la source majeure de l'H₂O₂. L'H₂O₂ n'est pas un radical libre mais a la capacité de générer des radicaux hautement réactifs. En présence de métaux de transition (fer et cuivre), l'H₂O₂ donne naissance via la réaction de Fenton à un radical hydroxyle HO• hautement réactif (**Bonnefont , et al., 2003**).

e) Le peroxyde nitrite (NO₃-)

Son apparition est extrêmement rapide, et se produit par une réaction entre deux ERO :



A l'instar du radical hydroxyle, NO_3^- est une ERO qui cause beaucoup de dommages aux composants cellulaires (Bonnefont, et al., 2003).

f) L'acide hypochlorique (HOCl)

Il est formé à partir du peroxyde d'hydrogène. Il passe facilement à travers les membranes biologiques, et peut altérer les constituants protéiques de la cellule à cause de son fort pouvoir oxydant (Bonnefont, et al., 2003).



Un récapitulatif des principales ERO et de leurs formations est présenté dans la figure qui suite (Figure 05)

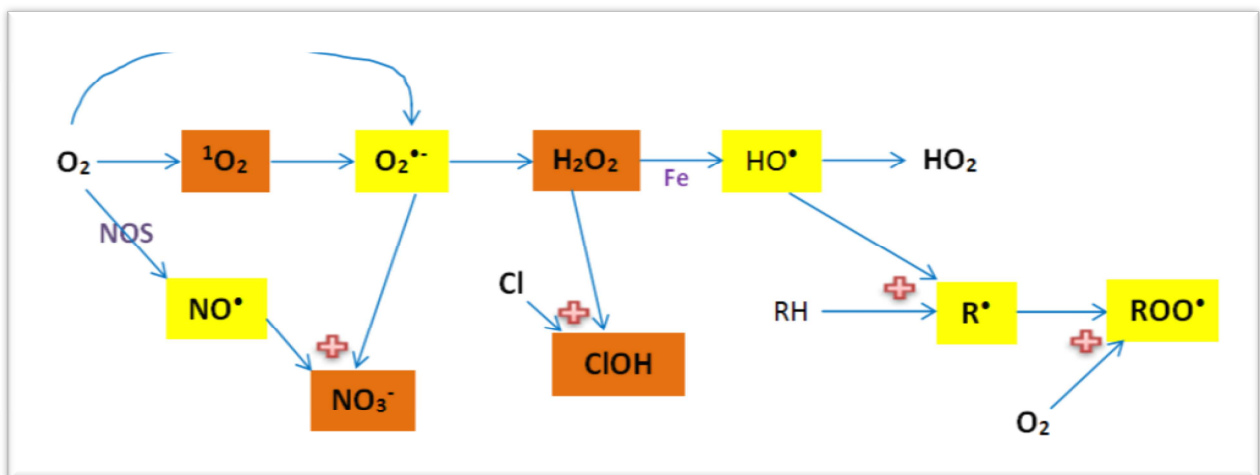


Figure 05 : Cascade de production des principales ERO : en orange ERO non radicalaires et en jaune ERO radicalaires (Favier A., 1997).

4. Rôle physiologique des espèces réactives oxydantes

De façon physiologique, les ERO existent dans les cellules et dans les tissus à des concentrations faibles mais mesurables (Halliwell, et al., 2008) (Sies, 1991); Elles protègent, régulent la cellule et permettent de maintenir une certaine homéostasie de l'état redox de l'organisme. Lorsqu'elles sont produites dans un compartiment cellulaire spécifique, elles peuvent participer au fonctionnement de certaines enzymes, intervenir dans la défense immunitaire (Oxidative Burst ou Flambée Respiratoire), agir en tant que second messager

cellulaire, intervenir dans les voies de transduction du signal et réguler les fonctions cellulaires (Dikalov, et al., 2007).

5. Les antioxydants

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction d'ERO. Le terme d'antioxydant désigne toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat (Halliwell, 1990). Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (Delattre, et al., 2005).

On distingue classiquement 2 catégories d'antioxydants : les antioxydants enzymatiques ; comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques et les antioxydants non enzymatiques pour lesquels nous différencierons ceux qui sont liposolubles et donc répartis dans les membranes biologiques de ceux qui sont hydrosolubles et donc plutôt répartis dans le cytosol, le milieu extracellulaire et le plasma.

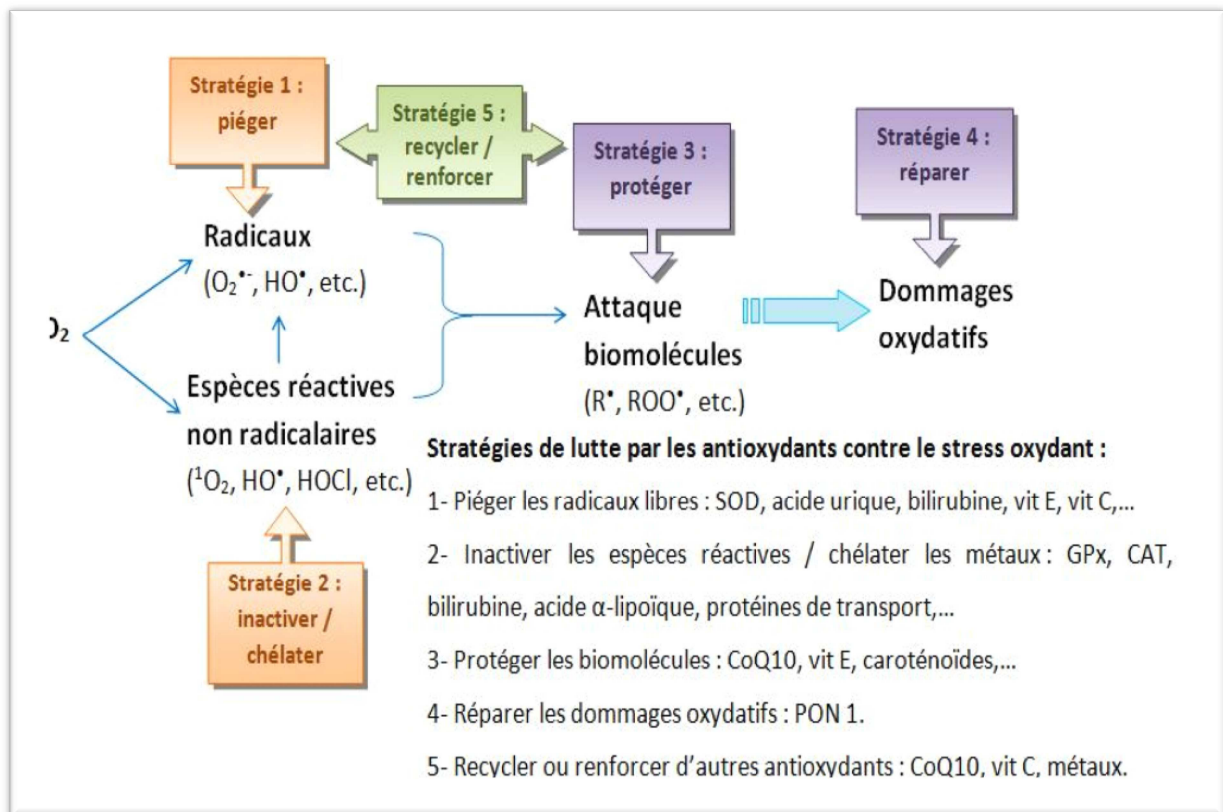


Figure06. Stratégies de lutte des antioxydants contre les causes les conséquences du stress oxydant (Grandjean, 2005).

5.1 Antioxydants enzymatiques

L'organisme se défend contre les radicaux en synthétisant des enzymes qui les neutralisent. Les principales enzymes antioxydants sont le superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase (**Vincent, et al., 2004**).

- **Superoxyde dismutase (SOD)**

Ce sont des métalloenzymes à manganèse ou à cuivre et zinc présentes dans la mitochondrie. L'enzyme catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène qui pourra être pris en charge par des enzymes à activité peroxydase (**Baudin, 2006**).

- **Glutathion peroxydase (GPx)**

La GPx fait partie d'un système complet qui joue un rôle central dans le mécanisme d'élimination du H₂O₂. La GPx est l'enzyme clef du système antioxydant et nécessite la présence de glutathion réduit (GSH) comme donneur d'électron. Le glutathion disulfite (GSSG) ainsi produit est à nouveau réduit par le glutathion réductase (GR) qui utilise le NADPH comme donneur d'électron (**Agarwal, et al., 2005**).

5.2 Système antioxydant non enzymatique

Ce système fait appel à des molécules non enzymatiques telles que les vitamines antioxydante (vitamine C et vitamine E), les caroténoïdes et les composés phénoliques. Contrairement aux enzymes antioxydants, ces composés ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation (**Gardès-Albert, et al., 2003**).

- **Vitamine E**

La vitamine E (α -tocophérol) est le principal antioxydant. Elle neutralise les radicaux libres ensuite stoppe la chaîne de réactions de peroxydation des lipides. Cette vitamine devient à son tour un radical moins réactif, qui pourra être régénéré par l'acide ascorbique (**Bationo, et al., 2015**).

- **Vitamine C ou acide ascorbique**

L'acide L'ascorbique de formule C₆H₈O₆ présente deux carbones asymétriques, une fonction lactone, deux fonctions alcool puis une fonction ène-diol (HO -C = C = OH) (**Marc, et al., 2004**).

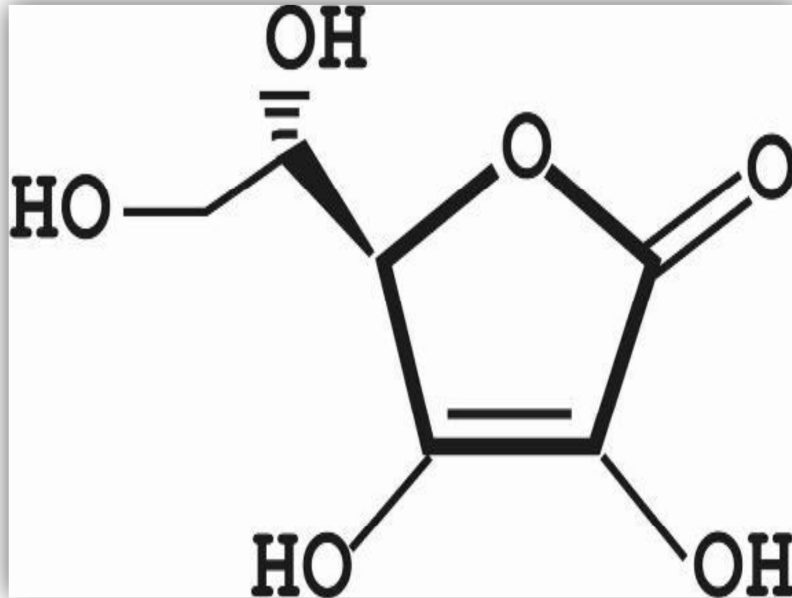


Figure 07. Structure chimique de la vitamine C.

Elle joue un rôle de prévention de l'oxydation dans le plasma et les fluides extracellulaires, dont elle est considérée comme le plus important antioxydant (**Koolman, et al., 2004**). Son action est directe et indirecte, elle agit directement sur les ERO (superoxydes, hydroxyle, oxygène singulet, radicaux lipidiques) et indirectement par son action de régénération de la vitamine E et du GSH. L'organisation spatiale de la vitamine C lui permet de se lier à la phase aqueuse de la vitamine E oxydée dans la membrane cellulaire, et de rapidement lui céder son électron. Après avoir cédé son électron, la vitamine C forme un radical très peu réactif, qui sera ensuite reconverti en vitamine C par une enzyme réductase, qui utilise du GSH ou par l'acide alpha-lipoïque (**Duarte, et al., 2007**).

➤ L'acide urique

L'acide urique comme produit final du métabolisme des purines (**Baillie, et al., 2007**). Il a été proposé comme un des meilleurs antioxydants du plasma *in vivo*, où il pourrait contribuer à 35-60% de la capacité antioxydante totale (**Waring, 2003**). Il agit comme un, donneur d'électrons capable ainsi de stabiliser les radicaux hydroxyles et peroxy et l'oxygène singulet (**Powers, et al., 2008**). L'acide urique peut être oxydé en différents produits dont le prédominant est l'allantoïne (**Hellsten, 2001**), puis est régénéré par la vitamine C4.

➤ Le glutathion (GSH)

Le glutathion, sous sa forme réduite, est un tripeptide formé par la condensation d'acide glutamique, de cystéine et de glycine : L-glutamyl-cystéinyl-glycine. C'est le thiol intracellulaire ubiquiste le plus abondant. Sous l'action de la GPx, il désintoxique les ERO (H_2O_2 , peroxydites, peroxydes lipidiques), en formant du GSSG (glutathion oxydé) composé de deux molécules de GSH (**Douris, 2009**). Il est détoxifiant au niveau hépatique et peut se lier aux métaux toxiques (mercure, arsenic, plomb,) (**Meister, 1991; Lyn Patrick, 2006**);. Le GSH intervient également dans le cycle de régénération de 2 vitamines antioxydantes : la vitamine E et la vitamine C.

Chapitre04 :

Glande thyroïdienne

1. Généralité

La glande thyroïde est indispensable au bon fonctionnement de notre organisme, et les pathologies dont elle peut être victime sont relativement fréquentes. Actrice essentielle au sein du système endocrinien, elle assure un grand nombre de fonctions primordiales à l'équilibre du corps. Elle est pour cela placée sous le contrôle de l'hypophyse, elle-même inféodée à l'hypothalamus. La synthèse et la sécrétion des hormones thyroïdiennes sont maintenues dans des limites étroites par des mécanismes de régulation très sensibles (**Hervé, 2009**). L'hormone principale fabriquée par la thyroïde est la thyroxine, participe à la régulation du métabolisme du corps et intervient notamment dans les processus de croissance, dans la différenciation des tissus, ainsi que dans la régulation du développement physique et mental (**Gaulin et Guelmane, 2013**).

2. Morphologie

La thyroïde est une glande située dans la partie antéro inférieure du cou, en avant des six premiers anneaux de la trachée, sous le cartilage. Elle est constituée par deux lobes latéraux ovoïdes, réunis par un isthme duquel se détache parfois un lobe intermédiaire ou pyramide de L'alouette, vestige de l'embryogénèse (voir figure 08). Ce qui lui donne globalement la forme d'un H ou d'un papillon. C'est une glande de petite taille, de 5 à 6 cm de hauteur et d'environ 2 cm de largeur et d'épaisseur. Son poids moyen est de 30g (**Brouet, 2011**).

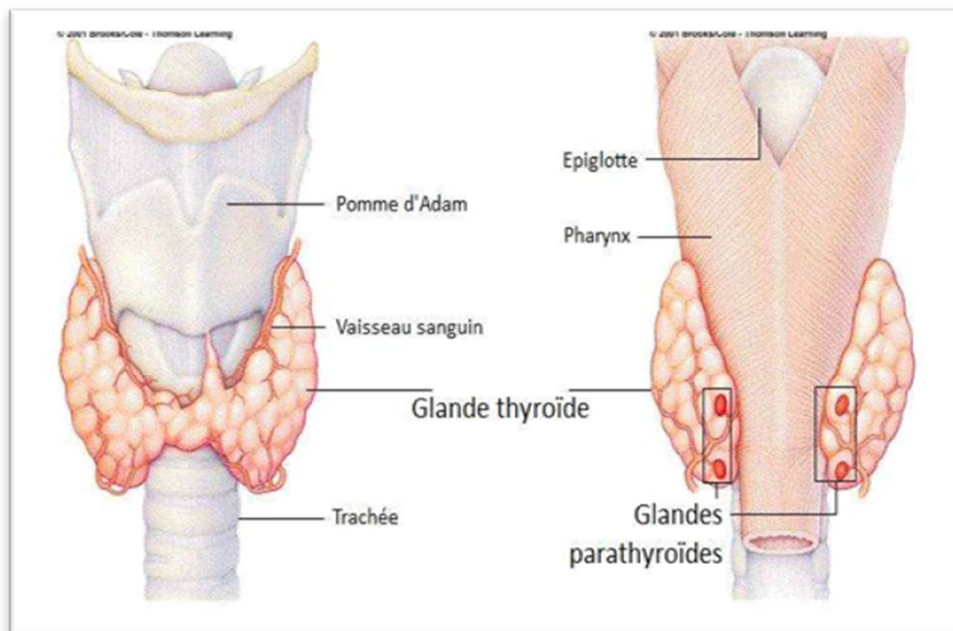


Figure 08. Vue antérieure de la thyroïde (**Bakhti Sari, 2017**) .

2.1.Vascularisation

La thyroïde est richement vascularisée (voir figure 09). On retrouve deux artères supérieures provenant de la carotide externe et deux artères inférieures issues du tronc artériel thyro bicervico scapulaire. Dans 8 à 10% des cas, on retrouve une artère moyenne. Les veines sont regroupées en 3 groupes :

- Les veines thyroïdiennes supérieures
- Les veines thyroïdiennes moyennes
- Les veines thyroïdiennes inférieures (**Broue, 2011**)

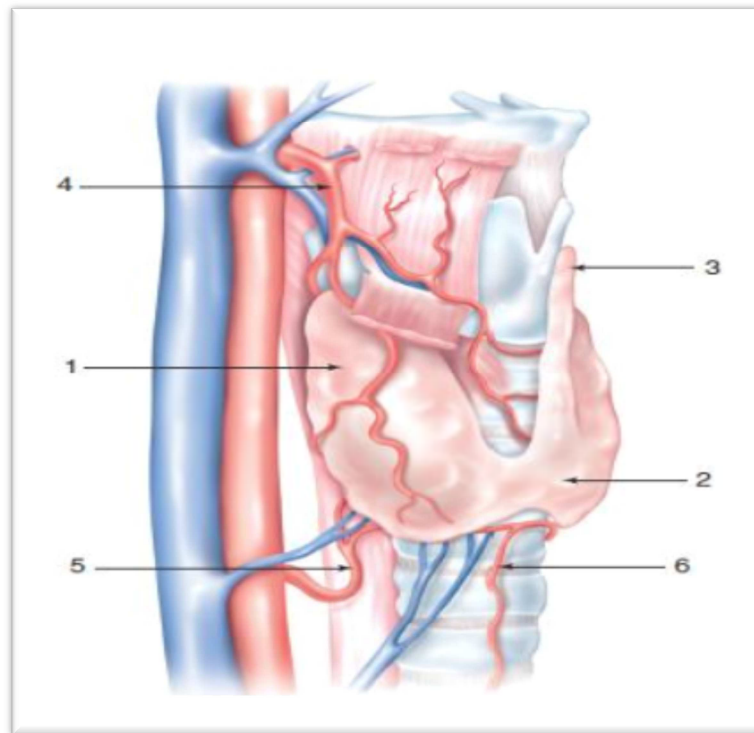


Figure 09. Vascularisation de la thyroïde (**Ryndak-Swiercz, 2010**).

(1) Lobe thyroïdien droit, (2) Isthme, (3) Pyramide de La louette (lobe médian), (4) Artère thyroïdienne supérieure, (5) Artère thyroïdienne inférieure, (6) Artère thyroïdienne moyenne (de Neubauer).

2.2.Les lymphatiques

Les réseaux lymphatiques intra parenchymateux se draine vers un réseau sous scapulaire

Largement anastomotique. Les troncs des collecteurs ont une triple destination :

- ✓ Les nœuds lymphatiques jugulo carotidiens (nœud de KUTTNER, de POIRIER...)
- ✓ Les nœuds lymphatiques pré laryngés à la hauteur de la membranecrico-thyroïdienne
- ✓ -Les nœuds lymphatiques récurrentiels et pré-trachéal.

Le drainage lymphatique de la glande thyroïde est bilatéral et croisé, ce qui implique que tout geste chirurgical ganglionnaire doit être bilatéral (**Kamara, 2002**).

2.3.L'innervation :

L'innervation de la glande thyroïde est double :

- ✓ Sympathique par les rameaux vasculaires des ganglions cervicaux.
- ✓ Parasymphatique par des filets du nerf laryngé supérieur et inférieur (**Kamara, 2002**).

2.4.Les parathyroïdes :

Les glandes parathyroïdes sont des petites glandes exocrines situées à la face postérieure de la glande thyroïde, elles sont généralement au nombre de quatre. De 3 à 5 centimètres de diamètre, elles sécrètent la parathormone (PTH) qui régule les taux de Calcium et de Phosphore dans le sang (**Masson, P. , 2014**).

3. Histologie

La thyroïde est constituée de lobules, eux-mêmes divisés en 20 à 40 follicules. Ce follicule thyroïdien, ou vésicule, est l'unité anatomique et fonctionnelle.

Ces follicules sont constitués d'une paroi épithéliale délimitant un espace rempli par une substance amorphe appelée colloïde. Deux types de cellule composent l'épithélium :

- Les cellules folliculaires ou thyrocytes, responsables de la synthèse des hormones thyroïdiennes ;
- Les cellules C ou para folliculaires sécrétant la thyrocalcitonine (**Brouet, 2011**).

3.1. Les cellules folliculaires

Les cellules folliculaires sont maintenues entre elles par des jonctions serrées, délimitant un compartiment étanche appelé lumière folliculaire. Ces jonctions ne sont retrouvées que du côté apical. Ce sont des cellules qui synthétisent les hormones thyroïdiennes. Leur taille et leur morphologie varient selon l'activité de la glande : une cellule plate est relativement inactive, et une cellule cubique active (**Brouet, 2011**).

3.2. Les cellules C ou parafolliculaires

Ces cellules sont beaucoup moins nombreuses que les thyrocytes (moins de 0,1% de parenchyme thyroïdien). Non concernées par l'activité thyroïdienne. Elles sécrètent une hormone appelée calcitonine, qui a une action hypocalcémisante. Ce taux de calcitonine est utilisé comme un marqueur spécifique du cancer médullaire de la thyroïde (**Brouet, 2011**).

3.3. Le colloïde

Le colloïde est une masse pâteuse jaune plus ou moins abondante selon l'activité de la glande, contenue dans la lumière folliculaire. Elle constitue une réserve d'hormones thyroïdiennes (**Brouet, 2011**).

4. Libération des hormones thyroïdiennes

La thyroglobuline iodée contenant les hormones T3 et T4 est capturée par endocytose par le thyrocyte et forme des compartiments intracellulaires dans lesquels elle est en contact avec des enzymes lysosomales. Les hormones T3 et T4 sont libérées dans le cytoplasme par protéolyse. Les MIT et les DIT sont rapidement désiodés par une iodotyrosine désiodase. Les hormones passeraient du cytoplasme aux capillaires sanguins par diffusion passive ou grâce à des protéines transporteuses encore non identifiées.

Dans le plasma, les hormones sont liées à des protéines de liaison : principalement à la Thyroxine Binding Protein ou TBG, mais aussi à l'albumine et à la pré-albumine.

La T4 est en réalité un précurseur de la T3, avec une demi-vie beaucoup plus longue (environ 7 jours contre 36h). Au niveau des organes, 20% de la T3 utilisée est d'origine thyroïdienne, le reste provenant de la désiodation de la T4 (**Brouet, 2011**).

5. Facteur de régulation de la sécrétion des hormones thyroïdiennes

Cette régulation dépend d'un facteur hypothalamique, le TRH, et d'une hormone trophique hypophysaire, la TSH (**Tramalloni, et al., 2005**).

5.1 TRH (thyrolibérine)

La thyrolibérine ou TRH (tyrotropinreleasing hormone) est un tripeptide au niveau de la cellule thyroïdienne. La TRH a deux actions :

- La libération immédiate de la TSH et l'induction de la synthèse de la TSH.
- La TRH serait donc responsable du contrôle positif au niveau de l'hypophyse (Kamara, 2002).

5.2 Thyrothropine (thyroid-stimulating-hormone ou TSH):

Le TSH est l'une des hormones hypophysaires (figure 10). Elle agit sur la thyroïde à trois niveaux :

- ✓ En stimulant la prolifération des thyrocytes ;
- ✓ En activant la biosynthèse des hormones thyroïdiennes

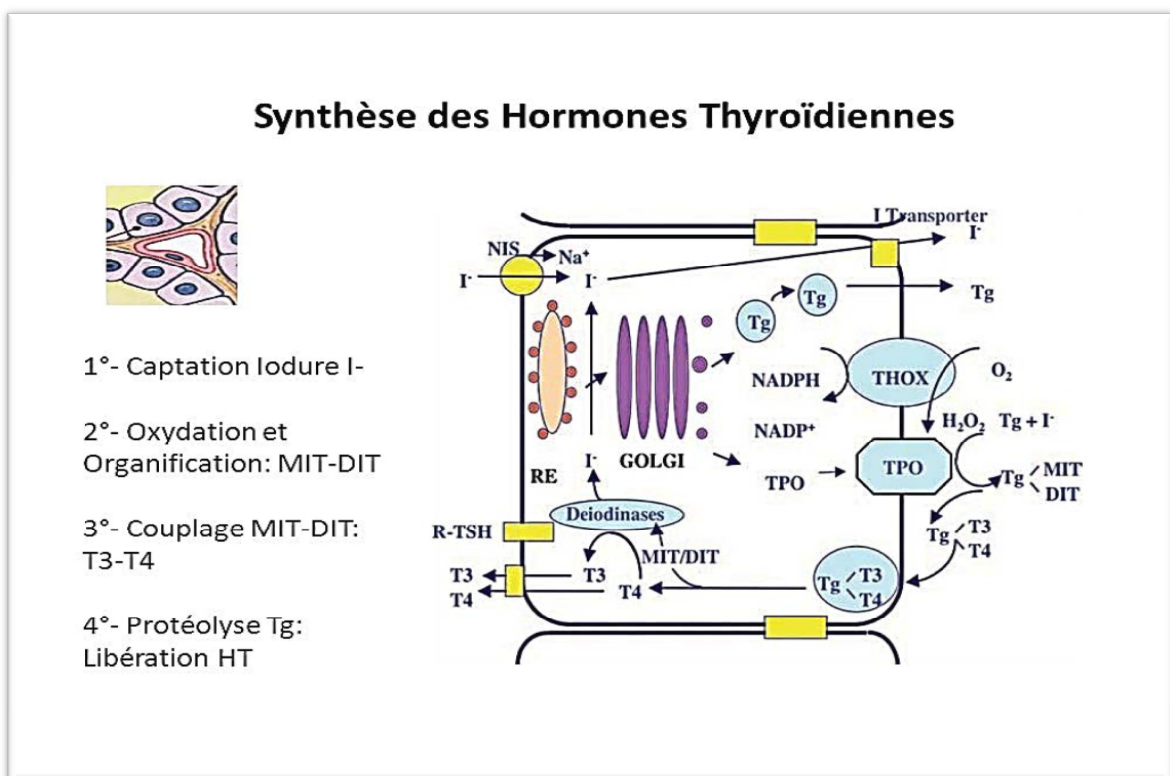


Figure 10. Synthèse et sécrétion des hormones thyroïdiennes (Bakhti Sari, 2017).

L'activité de la cellule hypophysaire qui sécrète la TSH est sous contrôle :

- ✓ Négatif des hormones thyroïdiennes. La T3 et la T4 exercent quant à elles un rétrocontrôle négatif, leur augmentation entraîne une diminution de la sécrétion de la TRH et une moindre sensibilité de l'antéhypophyse ; **(Bakhti Sari, 2017)**.
- ✓ Positif de la TRH (thyrotropine-releasing hormone) d'origine hypothalamique ; cette dernière obéit également au rétrocontrôle négatif des hormones thyroïdiennes et à plusieurs neurotransmetteurs **(Tramalloni, et al., 2005)**.

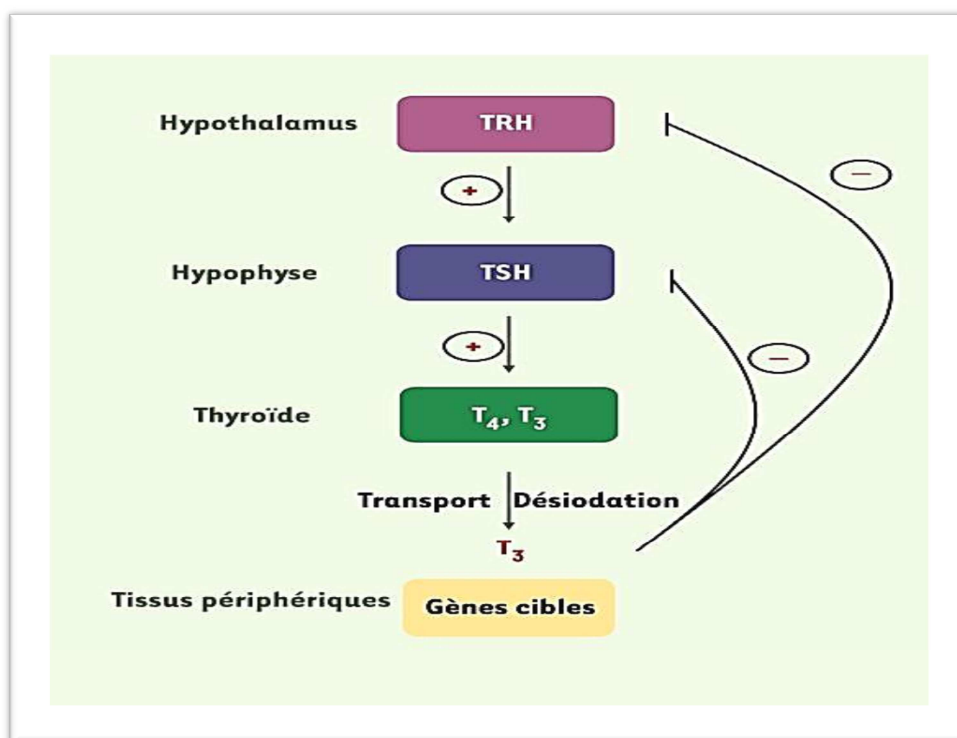


Figure 11. Régulation de la production de l'hormone thyroïdienne **(Bakhti Sari, 2017)**

5.3 Iodure

Son action sur le thyrocyte est très importante. La carence en iode comme son inflation est la cause de multiple thyropathies (**Tramalloni, et al., 2005**).

5.3 Autres facteurs de régulation

La fonction thyroïdienne peut en outre être modulée par :

- Divers neurotransmetteurs (adrénaline...);
- Des facteurs de croissance (insuline...);
- Des cytokines (interféron, interleukines...) (**Tramalloni, et al., 2005**).

6. Distribution et métabolisme des hormones thyroïdiennes :

Les hormones thyroïdiennes sont hydrophobes et se lient donc à des protéines de transport :

- ✓ Non spécifique : albumine (pour une petite partie)
- ✓ Spécifiques : TBG-Thyroxine Binding Globulin (pour environ 60 à 75 %) et TBPA–Thyroxin Binding PreAlbumin.
- ✓ Il est important de rappeler que seule la fraction libre, même très minoritaire (0,01 à 0,03 % de la T4 et 0,1 à 0,4 % de la T3) est active.

La totalité de la T4 circulante provient de la production thyroïdienne, tandis que la plus grande partie de la T3 est issue de la conversion périphérique de T4 en T3.

La dégradation des HT se fait au niveau du foie et du rein par diverses voies : conjugaison (puis excrétion biliaire), désamination et décarboxylation de la chaîne latérale alanine, désiodation périphérique (**Ben Yachou, 2013**)

7. Régulation de la fonction thyroïdienne

Le principal système de régulation est représenté par l'axe thyroïdienne. Il est complété par un système d'autorégulation thyroïdienne. Par ailleurs, le statut nutritionnel influence également la fonction thyroïdienne et en particulier le catabolisme des hormones. La TSH agit à différents niveaux :

- Elle contrôle et stimule les différentes étapes de l'hormone-synthèse : capture de l'iode, iodation de la thyroglobuline, hydrolyse de la thyroglobuline et sécrétion hormonale ;
- Est un facteur de croissance pour la thyroïde ;

- La synthèse et la sécrétion de TSH sont sous le contrôle de plusieurs facteurs, les plus importants étant le rétrocontrôle négatif par les hormones thyroïdiennes et l'action stimulante de la TRH (**Ben Yachou, 2013**).

8. Mécanismes d'action des hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes ont un mécanisme d'action intranucléaire en se liant à des récepteurs spécifiques selon les cellules cibles. La T3, dont l'affinité pour ces récepteurs est bien plus importante que celle de la T4, est, pour cette raison, la forme métaboliquement active. Cette transformation de T4 en T3 va se faire essentiellement au niveau des cellules cibles et, selon le type de cellule dans lequel on se trouve, la quantité d'enzymes capables d'effectuer cette désiodation sera plus ou moins importante en fonction de la capacité de réponse attendue (**Harout, 2008**).

Matériels et méthodes

1. Matériels et méthode

1.1. Matériel

1.1.1. Les animaux de laboratoire

Notre étude expérimentale a été réalisée 16 rats blancs males de l'espèce *Rattus rattus* L, un mammifère nocturne de l'ordre des rongeurs, fréquemment utilisé dans les recherches.

Les animaux proviennent de l'animalerie de l'institut pasteur d'Alger.

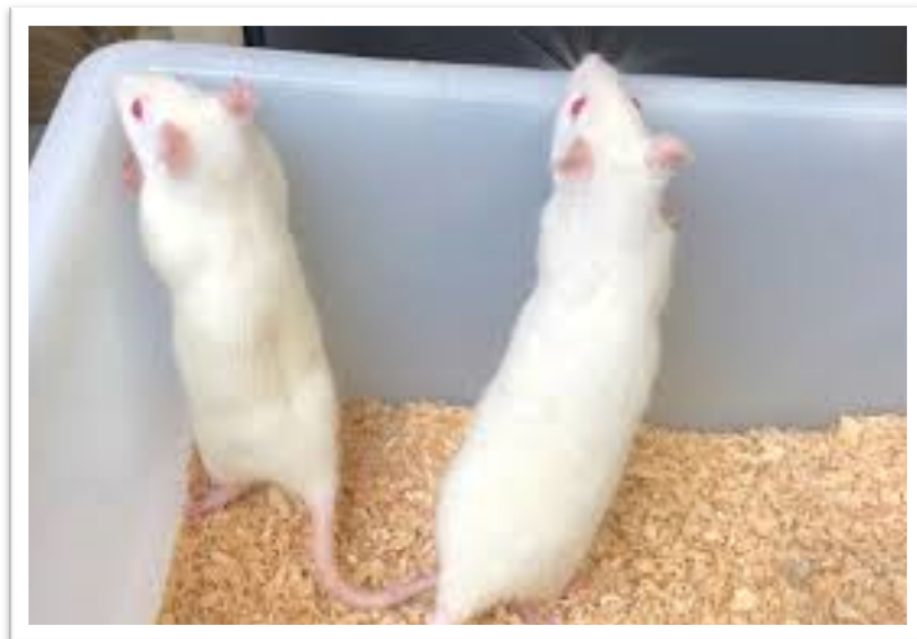


Figure 12. Rat wistar (*Rattus rattus* L) (photos personnel).

1.1.2. Matériel végétal

Melissa officinalis L. est une plante vivace haute de 20 à 40 cm. Ses tiges sont dressées et divisées en plusieurs tiges secondaires dites (rameuses). Les feuilles grandes et ovales (figure 13).



Figure 13. *Melissa officinalis* L

- **Récolte**

L'étude phytochimique a été réalisée sur les parties aériennes (feuilles et tiges) de *Melissa officinalis* et qui a été récoltée de la région de Bir El Ater (90 Km sud de Tébessa) durant le mois de Mai 2019 (figure 14).

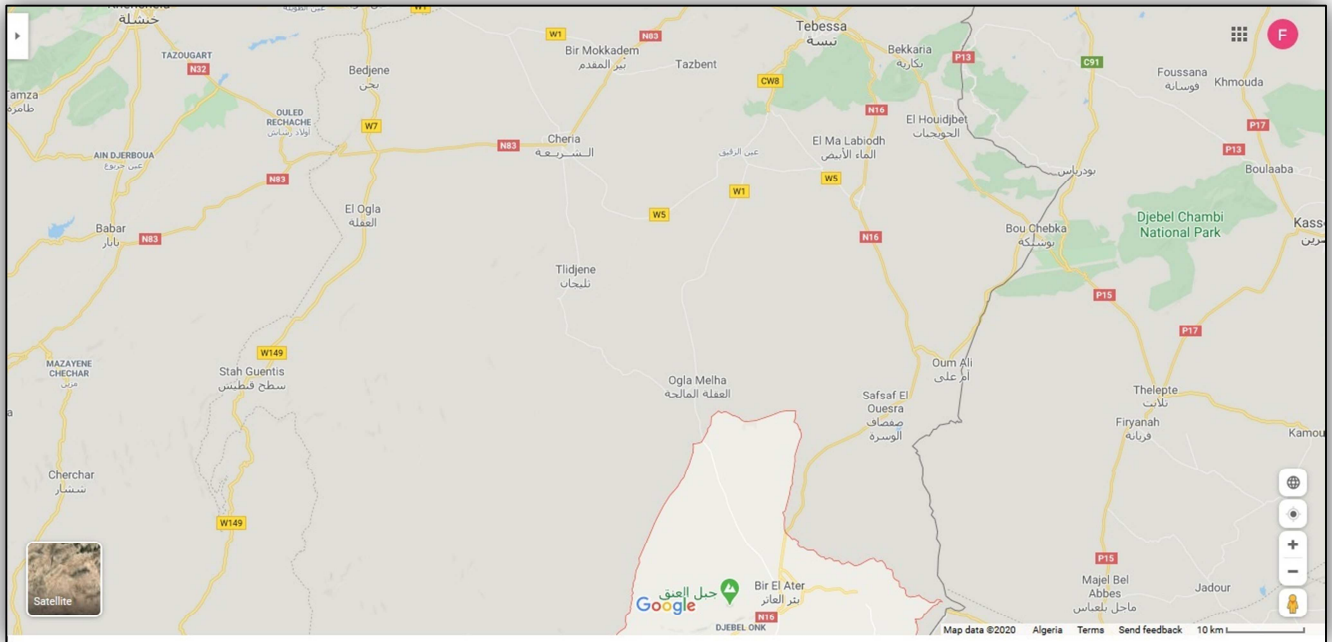


Figure 14. Localisation de la zone de collecte de la plante étudiée (*Melissa officinalis*)

1.2. Méthodologie

1.2.1. Séchage la plante

Le séchage permet d'éliminer la quantité d'eau retenue dans la plante. C'est une opération importante qui doit être faite avant toute utilisation, le séchage a été effectué à l'ombre et à l'abri de la lumière.

1.2.2. Extraction

L'extraction d'huile essentielle de *M. officinalis* a été conduite en utilisant un appareil d'extraction de type Clevenger et réalisée au niveau de laboratoire de Toxicologie du département de Biologie Appliquée de la Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie, Université Larbi Tebessi, Tébessa.

1.2.3. Principe

L'hydrodistillation (water distillation) est la méthode la plus simple et de ce fait, la plus anciennement utilisée. Le principe consiste à porter à ébullition dans un ballon, un mélange d'eau et de plante dont on souhaite extraire l'huile essentielle. Les cellules végétales éclatent et libèrent les molécules odorantes, lesquelles sont alors entraînées par la vapeur d'eau créée. Elles passent par un réfrigérant à eau où elles sont condensées, puis sont récupérées dans un récipient (Nèche Zidouma, 2019).

1.2.4. Mode opératoire

L'extraction des HEs de la plante *Mélisse officinalis* été effectuée à l'aide d'un dispositif de type Clevenger. Avant l'emploi, l'appareil a été rincé avec de l'eau distillée (mis à blanc) afin d'éliminer les poussières et les graisses probablement présentes dans l'appareil pour éviter toute contamination de l'huile au cours de l'extraction (Figure 15). Cette méthode consiste à introduire 40 g de matériel végétal dans un ballon de 1 l contenant 450 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 1h 30min à l'aide d'un chauffe-ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle, traversent le réfrigérant et se condensent ainsi avant de chuter dans une ampoule de décantation, l'huile se sépare par la suite de l'eau par différence de densité.

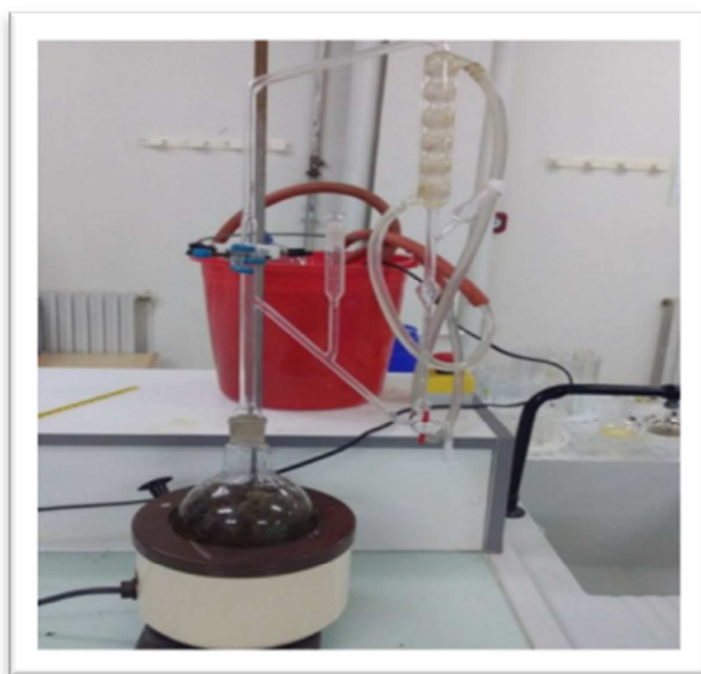


Figure 15. Dispositif d'Extraction par hydrodistillation type Clevenger (photos personnel).

1.2.5. Entretien des animaux

Après réception, une période d'adaptation de deux mois dans l'animalerie de département de Biologie Appliquée a été respectée. Les conditions étaient comme suit : température ambiante de $23 \pm 2^\circ\text{C}$, humidité ($60 \pm 5\%$) dans un cycle lumière-obscurité de 12 h. Les rats sont élevés dans des cages en plastique qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois nettoyées et changée chaque deux jours jusqu'à la fin de l'expérimentation avec un

accès libre à l'eau et à la nourriture (Figure 16). Les conditions d'élevage et d'expérimentation sont en accord avec les règles de l'éthique dans l'expérimentation animale.



Figure 16. Elevage des animaux d'expérimentation (photo personnelle).

1.2.6. Mesure du poids

La mesure de poids est effectuée sur les rats chaque jour d'une façon régulière pendant la durée de l'expérimentation soit au cours d'adaptation ou traitement à l'aide de balance électronique.

1.2.7. Choix des doses :

Dans cette étude, nous avons utilisé un pesticide (la deltaméthrine) et l'huile essentiel d'une plante médicinale (*Melissa officinalis* L.) à des doses de 0.64 mg/kg/j pour deltaméthrine et 150 mg/kg/j pour l'huile par voie orale pendant 23 jours. Le choix de ces doses est basé sur des études précédentes.

1.2.8. Traitement des rats

Les animaux ont été répartis en quatre groupes de quatre rats chacun, formant des lots homogènes. Le traitement est effectué par voie orale à l'aide d'une micropipette comme suit (figure17) :

- ✓ **Groupe T** : rats témoins ont reçu l'eau potable par voie orale.
- ✓ **Groupe HE** : rats traités par l'huile essentielle (HE) par voie orale à dose de 150 mg/kg/jour pendant 3 semaines du traitement.
- ✓ **Groupe D** : rats traités par la deltaméthrine (D) à dose de 0.64 mg/kg/jour pendant 3 semaines.
- ✓ **Groupe HE+D** : rats traités par la mixture de la deltaméthrine (D) à dose de 0.64 mg/kg/jour et de l'huile essentielle (HE) de plante médicinale à dose 150 mg/kg/jour pendant 3 semaines.



Figure 17. Traitement de rat par voie orale (photos personnelle).

1.2.9. Sacrifice et prélèvement de la thyroïde

A la fin de la période de traitement par deltaméthrine et l'huile de la plante *Melissa officinalis*, les animaux sont sacrifiés et ont été ouverts ventralement. Après dissection, la thyroïde a été rapidement prélevée et divisée sur deux parties (Figure 18).

Une partie conservée dans une solution de formol pour l'étude histologique et une partie conservée dans le congélateur pour l'évaluation du stress oxydatif pour le dosage des

protéines, de glutathion réduit (GSH), de malondialdéhyde (MDA), de glutathion peroxydase (GPx) et glutathion S-transférase (GST).

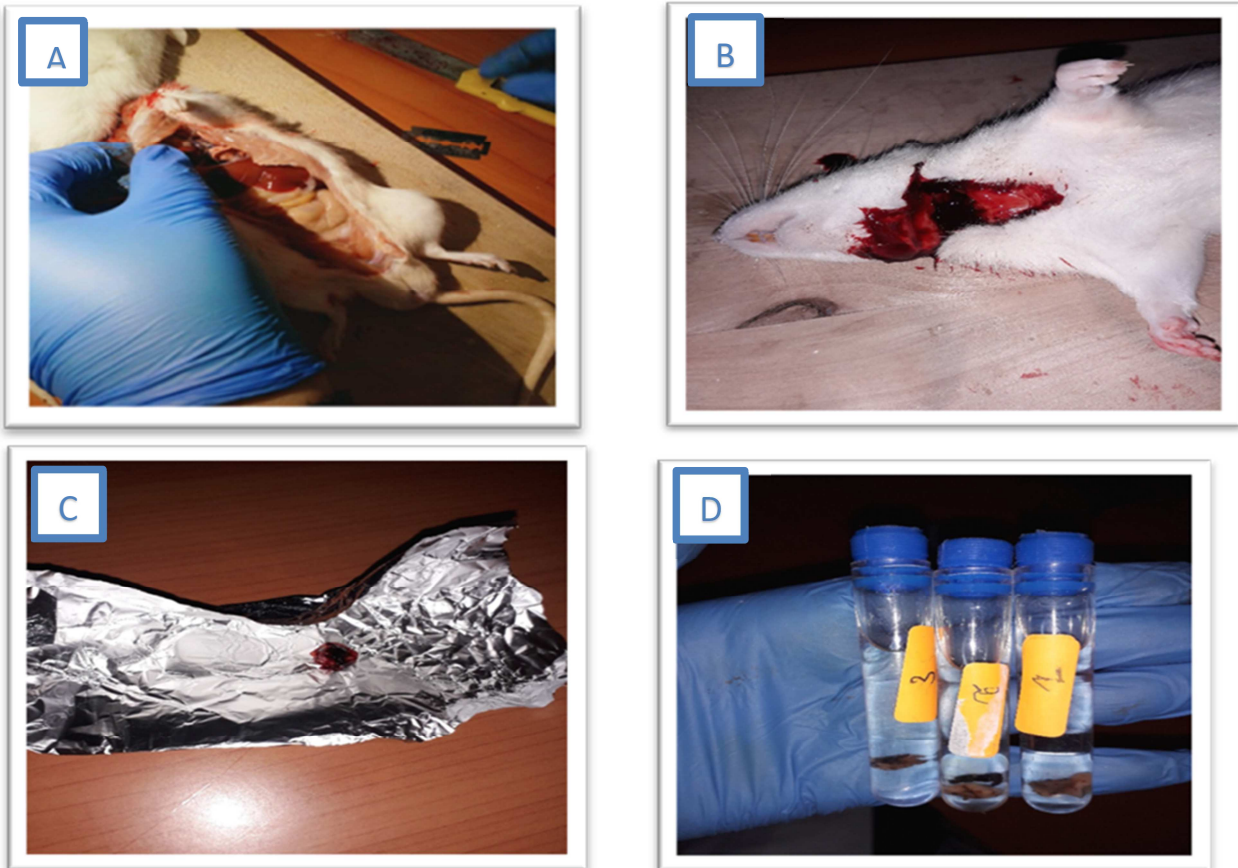


Figure 18. Sacrifice et prélèvement de la thyroïde (photos personnelle)

(A) : sacrifice des rats, (B) : prélèvement de la thyroïde, (C) : conservation de la thyroïde dans papier aluminium, (D) : conservation d'une partie de la thyroïde dans une solution de formol

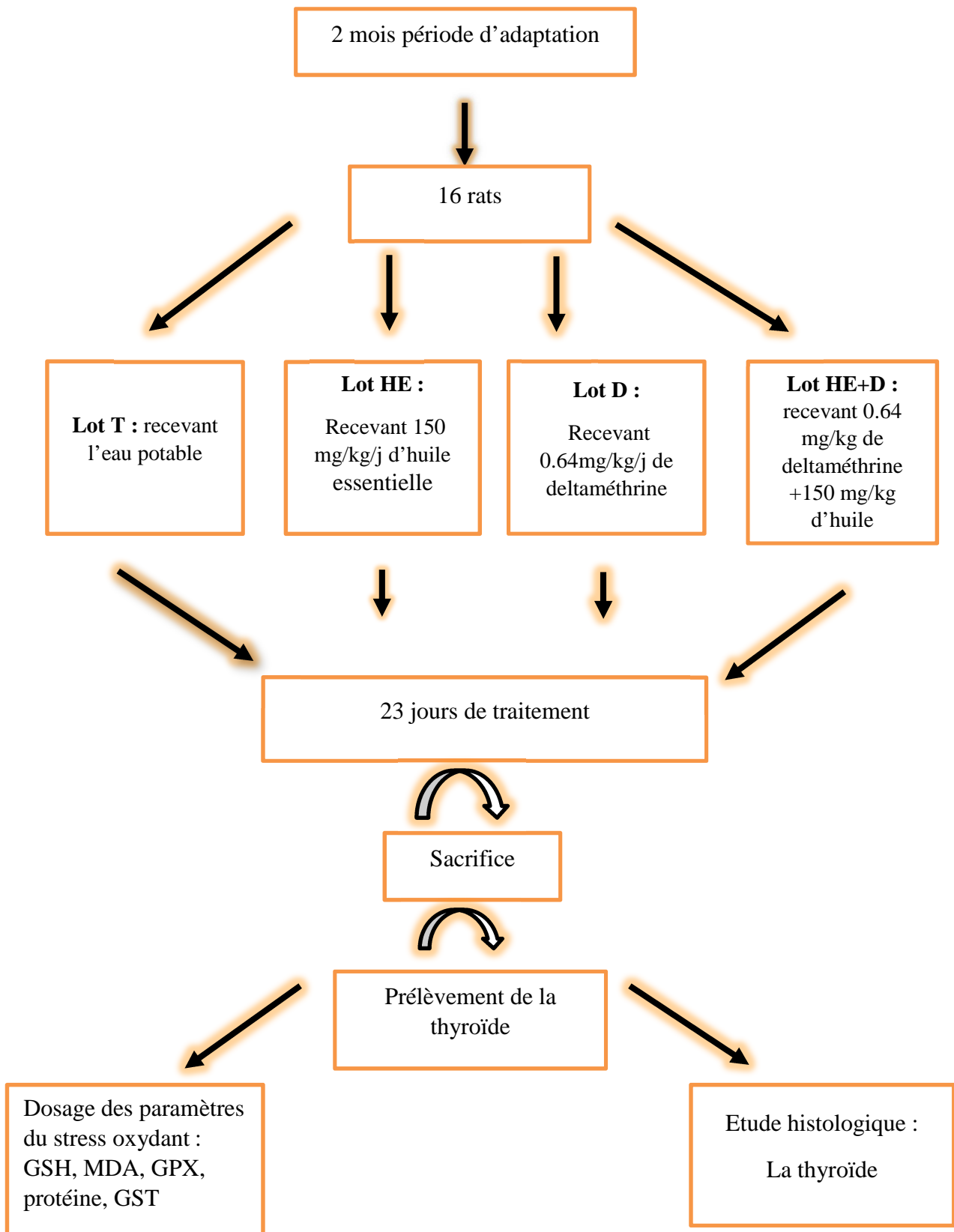


Figure 19. Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

3. dosages des paramètres de stress oxydatif

3.1. Paramètres non enzymatiques

3.1.1. Dosage du Malodialdéhyde MDA

- **Principe**

Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode (**Esterbaue, 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. L'intensité de cette coloration est mesurée à une longueur d'onde de 532 nm.

- **Mode opératoire**

- ✓ Prélever 375 µl d'échantillon dans un tube sec
- ✓ Ajouter 150 µl de (TBS)
- ✓ Ajouter 375 µl (TCA-BHT), ensuite vortex les tubes en L'agitateur.
- ✓ Centrifugé à 1000 tours pendant 10 minute
- ✓ 400 µl de Surnagent + 80 µl de Hcl +320 µl de TBA-tris
- ✓ Vortex et incubé au bain marie 80° C Pendant 10 minute
- ✓ Récupérer le surnage et lire la densité optique à 530 nm contre le blanc

Remarque : le blanc est préparé après le remplacement d'échantillon par l'eau distillé dans le tube

3.1.2. Dosage de GSH

- **Principe**

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

- **Mode opératoire**

- ✓ Prélever 800 µl d'échantillon
- ✓ Ajouter 200 µl d'acide sulfosalicylique (0.25 %)
- ✓ Vortexé les tubes
- ✓ Laisser 15 minutes dans bain de glace
- ✓ Centrifugé à 1000 tours pendant 5 minutes
- ✓ Récupérer 500 µl du surnageant
- ✓ Ajouter 1 ml (tris-EDTA) (0.02M/ph=9.6)
- ✓ Mélanger et ajouter 25 µl de DTNB (0.01 M)
- ✓ Laisser reposer 5 minutes à température ambiante (25°C)
- ✓ Lire l'absorbance (A) et mesurée à 412 nm

3.2. Paramètres enzymatiques

3.2.1. Dosage de la glutathion peroxydase (GPx)

- **Principe**

L'activité enzymatique de la GPx est mesurée par la méthode de (Flohe , et al., 1984), en utilisant H₂O₂ comme substrat. Cette enzyme catalyse l'oxydation de GSH par le cumène-hydro-peroxyde. En présence de GSH réductase et de NADPH, le glutathion oxydé (GSSG) est immédiatement converti à sa forme réduite avec une oxydation concomitante de NADPH--NADP⁺. Le recyclage du GSSG, produit de la GPx, permet d'éviter une sous-estimation de l'activité de la peroxydase due à un rétrocontrôle négatif de l'activité par une accumulation des produits de la réaction.

- **Mode opératoire**

- ✓ Prélever 200 µl d'échantillon dans un tube
- ✓ Ajouter 400 µl de GSH (0.1 mm/ph=7.8)
- ✓ Incuber dans bain marie à 25°C pendant 5 minutes
- ✓ Ajouter 200 µl de H₂O₂ (1.3 mM) pour initier la réaction
- ✓ Laisser reposer 10 minutes
- ✓ Ajouter 1 µl de TCA (1%) pour arrêter la réaction
- ✓ Ajouter dans un bain de glace pendant 30 minutes
- ✓ Centrifugé à 1000 tours pendant 10 minutes

- ✓ Récupérer 480 µl de surnagent
- ✓ Ajouter 320 µl de DTNB, 2.2 ml de TP (0.32M)
- ✓ Lire chaque 15 secondes pendant 1 minutes les densités optiques à 412 nm contre le blanc

3.2.2. Dosage de GST

- **Principe**

La mesure de l'activité de glutathion S-Transférase (GST) est déterminée selon la méthode de **(Habig, et al., 1974)**, Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-Chloro2,4-dinitrobenzène) en d'un cofacteur le glutathion (GST), la conjugaison entraîne la formation d'une molécule nouvelle ; 1-S-Glutathionyle 2-4 Di nitrobenzène permettant de mesurer l'activité de GST. La valeur de la densité optique mesurée est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formé elle-même liée à l'intensité de l'activité GST.

- **Mode opératoire**

- ✓ Prélever 200 µl d'échantillon
- ✓ Ajouter 1.2ml du mélange CDNB (1mM)
- ✓ La lecture des absorbances est effectuée pendant une minute et chaque 15sec à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc.

3.3. Paramètres métaboliques

3.3.1. Dosage des protéines

- **Principe**

La concentration des protéines est déterminée par la méthode de **(Bradford, 1976)** en utilisant l'albumine de sérum de bœuf (BSA) comme standard. Cette méthode se fonde sur l'ajout du colorant, le (BBC), à une solution contenant des protéines (surnagent) afin de déterminer la concentration en protéines totales. Le BBC en solution acide possède la particularité de se lier aux protéines, par des interactions non covalente (ponts hydrogène, interactions hydrophobes et interactions ioniques), avec un effet immédiat sur son spectre d'absorption (interaction du colorant principalement avec des acides aminés basiques (lysine, arginine, histidine et aromatiques)).

• **Mode opératoire**

- ✓ Prélever 250 µl d'échantillon.
- ✓ Ajouter 75 µl d'eau distillé.
- ✓ Ajouter 1 ml de BBC.
- ✓ Laisser reposer 5 minutes.
- ✓ Lire l'absorbance de l'échantillon à 595 nm 1 fois.

4. Etude histologique

Tableau 07. Produits, instruments et appareils utilisés lors des différentes étapes de l'histologie

Produit	Instruments	Appareils
Eau de robinet	Histocassettes	Appareil d'enrobage*
Formole (10 %)	Paniers	Plaque refroidissante*
Paraffine	Porte-lame	Plaque chauffante*
Ethanol	Moules pour l'enrobage	Microtome*
Hématoxyline éosine (H&E)	Pinces	Etuve*
Xylène	Lames et lamelles	Automate d'inclusion*
Eukit	Pinceau	Microscope photonique (OPTIKA)

Tous les appareils utilisés sont de la marque Leica*

La technique d'anatomopathologie a été réalisée au laboratoire de l'hôpital Bougera Boularess Bekaria wilaya de Tébessa adaptée de l'ouvrage de **René Hould (1984)** et qui consiste les étapes suivantes :

4.1. Fixation et incubation

La thyroïde, précédemment prélevés, est fixé dans une solution contenant un volume de formol à 10% dix fois plus important que l'organe, Cette étape a pour but de préserver la morphologie cellulaire et tissulaire afin de garder l'échantillon dans un état aussi proche que possible de l'état in vivo tout en renforçant la consistance du tissu.

Les organes ont été par la suite découpés transversalement puis placés dans des cassettes d'histologiques marquées avant d'être plongées dans un Erlenmeyer contenant le fixateur. Ces cassettes ont ensuite été mises dans un panier de l'appareil automate de circulation, contenant 12 cuves (figure 20).



Figure 20. Conservation des organes et organes découpés (photos personnelle)

4.2. Déshydratation des échantillons

Les échantillons sont ensuite déshydratés pendant 15 heures au minimum pour éliminer l'eau des tissus et cette opération nécessite le passage du tissu dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70%, 80%, 90% et 100%). La déshydratation peut être accélérée par l'agitation rapide grâce à des automates spéciaux.

Effectué par le passage des échantillons dans cuves d'éthanol de concentration croissante (de 70% à 100%) pour une durée d'une 1h pour chacune. Cette étape permet d'éliminer l'eau des tissus pour les préparer à l'inclusion.

4.3. Clarification

Elle est effectuée par passage du panier dans le xylène pendant une durée d'une heure. Cette étape élimine toute trace d'éthanol dans l'échantillon.

Inclusion (Imprégnation) : qui s'agit d'une immersion des cassettes dans deux bains successifs de paraffine pendant 90 min chacune à une température de 56°C (figure 21).



Figure 21. Fixation (a) et incubation (b) des échantillons

4.4. Enrobage et confection des coupes

Les échantillons ont été délicatement retirés des cassettes avec une pince puis mis dans des moules en inox avant de les remplir de paraffine liquide (Figure 22). Après cela, les moules sont été déposés sur une plaque refroidissante afin de solidifier la paraffine pour la réalisation des coupes. Cette opération fait appel à des appareils « dits à inclusion » refermant un réservoir de paraffine maintenue à l'état liquide par un système de chauffage, un petit robinet et une plaque métallique réfrigérée pour obtenir la solidification rapide du bloc de paraffine contenant le tissu.

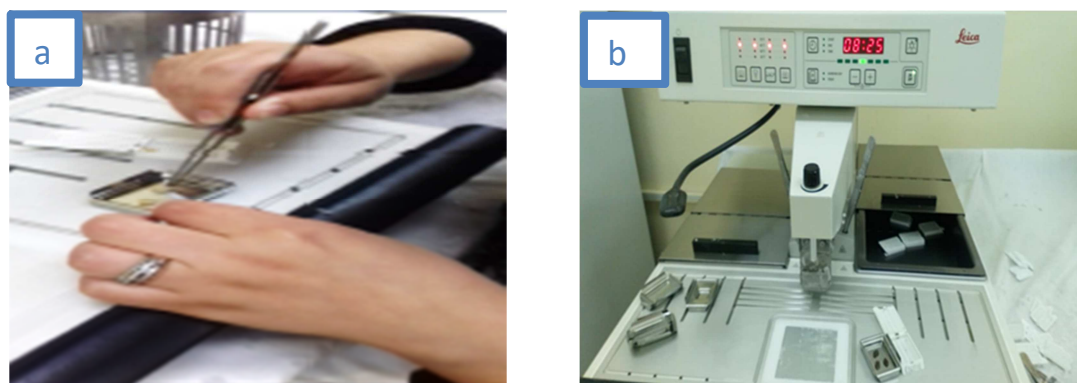


Figure 22. Enrobage (a) et confection (b) des coupes

4.5. Coupe et étalement des échantillons

Les coupes sont réalisées à l'aide d'un microtome, on vérifie la solidité du bloc de par affine puis en fixe le bloc sur la porte –bloc du microtome et on l'oriente convenablement puis les rubans de coupes sont effectués à une épaisseur à 4 à 7 microns Ces coupes sont étalées et fixées sur la lame par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

Les lames sont identifiées à l'aide d'un crayon diamanté puis déposer une goutte de liquide d'étalement (eau gélatineuse chauffée) sur lequel sera déposé le ruban de coupe. Puis ces lames sont placées sur une plaque chauffante (50°C) afin de faciliter l'étalement, ensuite elles sont placées dans une étuve à 39°C pendant deux heures (figure 23)

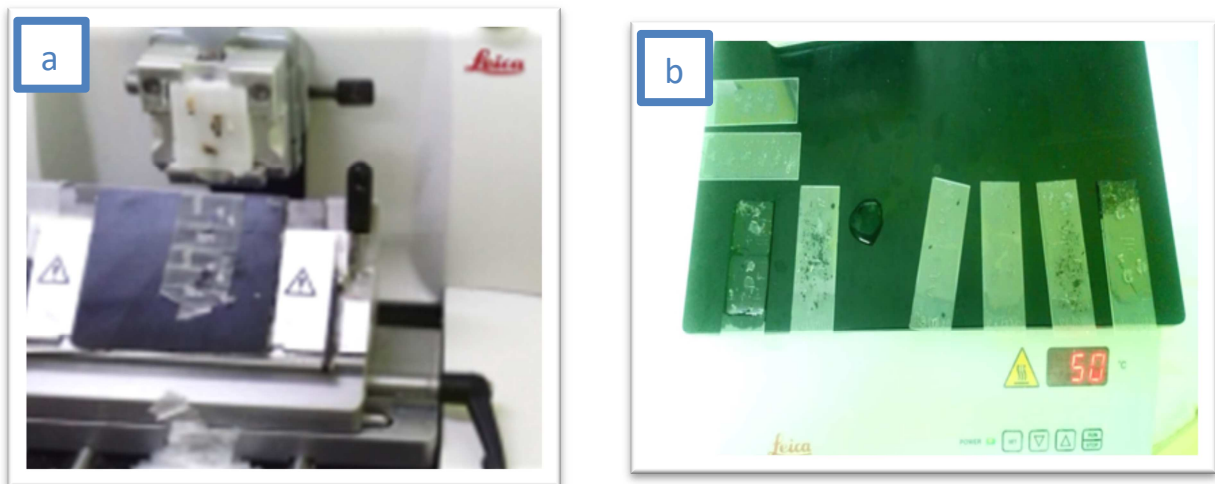


Figure 23. Coupe (a) et étalement (b) des échantillons

4.6. Déparaffinage et hydratation

Les lames doivent donc être déparaffinées avant leur coloration dans 3 bains de xylène pendant 10 min chacun, puis dans 3 bains d'éthanol, pendant 5 min pour le premier bain et un bain de passage pour les deux autres. L'hydratation se fait en plongeant les lames dans différents bains d'alcool d'ordre décroissant de 90% à 50% pendant 1 à 5 minutes, puis on rince avec l'eau courante pendant une minute.

4.7. Coloration et montage des coupes

La coloration des lames a été faite avec deux colorants qui permettent de mettre en évidence La morphologie cellulaire et tissulaire : l'hématoxyline basique qui colore le noyau acide (basophile) en bleu-violet et l'éosine acide qui colore le cytoplasme basique (acidophile) en rose.

La coloration joue un rôle primordial dans la technique histopathologique, suite à cette étape, les parties élémentaires de la cellule sont bien différenciés.

Les colorations histologiques sont très nombreuses, la coloration utilisée au niveau de laboratoire est la coloration par l'hématoxyline éosine, qui se résume en :

- | | | |
|---|---|------------------------|
| 1. Xylène..... | 10 min | } Pour déparaffiner |
| 2. Xylène..... | 10 min | |
| 3. Xylène..... | 10 min | |
| 4. Alcool 100°C..... | 5 min | } Pour enlever l'excès |
| 5. Alcool 100°C..... | passage | |
| 6. Alcool 100°C..... | passage | |
| 7. Eau courante | l'eau robinet | |
| 8. 1 ^{er} coloration Hématoxyline de Harris..... | 10 à 20min | |
| 9. Eau courante..... | jusqu'à disparition de la couleur bleu des bords des lames | |
| 10. 2 ^{ème} coloration Eosine..... | 2 à 5 min | |
| 11. Eau courante..... | jusqu'à disparition de la couleur rouge sur les bords des lames | |
| 12. Alcool 100°C..... | Passage | |
| 13. Alcool 100°C..... | Passage | |
| 14. Alcool 100°C..... | Passage | |
| 15. Xylène..... | Passage | |
| 16. Xylène..... | Passage | |
| 17. Xylène..... | 10 min des lames | |
| 18. Montage | Eukit | |

- **Etape du montage**

Le montage est considéré comme étant la dernière étape technique de la préparation des lames pour la lecture microscopique.

Il consiste à recouvrir l'étalement histologique avec une lamelle en utilisant un milieu de montage permanent qui est la résine synthétique, appelée : d'Eukit (Colle biologique) elle est d'utilisation très répandue en raison de son indice de réfraction plus élevé que celui de la résine naturelle. Le montage permet l'obtention d'un degré de transparence élevé de point de vue optique, et de protéger l'étalement qui ne supporte pas le dessèchement, ainsi que de conserver l'éclat des colorations aussi longtemps que possible (figure 24).

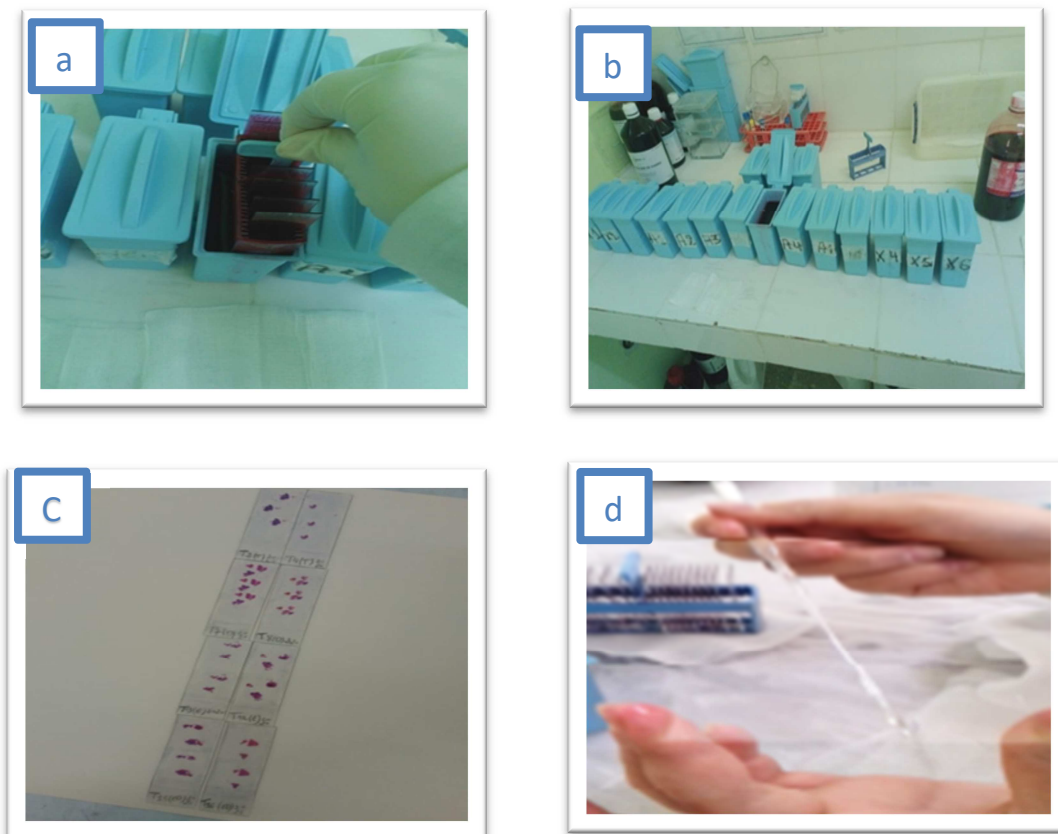


Figure 24. Coloration (a-b). et montage (c-d) des coupes

4.8. Observation microscopique

Une fois l'histologie terminée, les lames ont été observées à l'aide d'un microscope optique OPTIKA. Les agrandissements utilisés sont X 10 et X 40.

5. Analyse statistique des résultats

Les résultats ont été représentés sous forme de moyennes avec leur écart-type (Moy \pm écart type). Les analyses statistiques ont été effectuées pour une probabilité définie selon le test de la variable « t » de Student à l'aide du logiciel Microsoft Excel 2007.

Nous avons effectué trois comparaisons :

- Les groupes traités (E/D/E+D) par rapport au groupe témoin :
 - ✓ (*) : Différence significative ($p \leq 0.05$)
 - ✓ (**): Différence hautement significative ($p \leq 0.01$)Avec P : Seuil de signification

Résultat et discussion

1. Résultats

1.1 Effets de traitement sur la croissance corporelle

• Les résultats de l'évaluation du poids corporel montrent une diminution non significative de poids corporel chez les rats traités par l'huile essentielle de *Melissa*, et les traités par deltaméthrine, et les traités par la mixture de deltaméthrine et l'huile la plante par rapport aux rats témoins (Fig. a25).

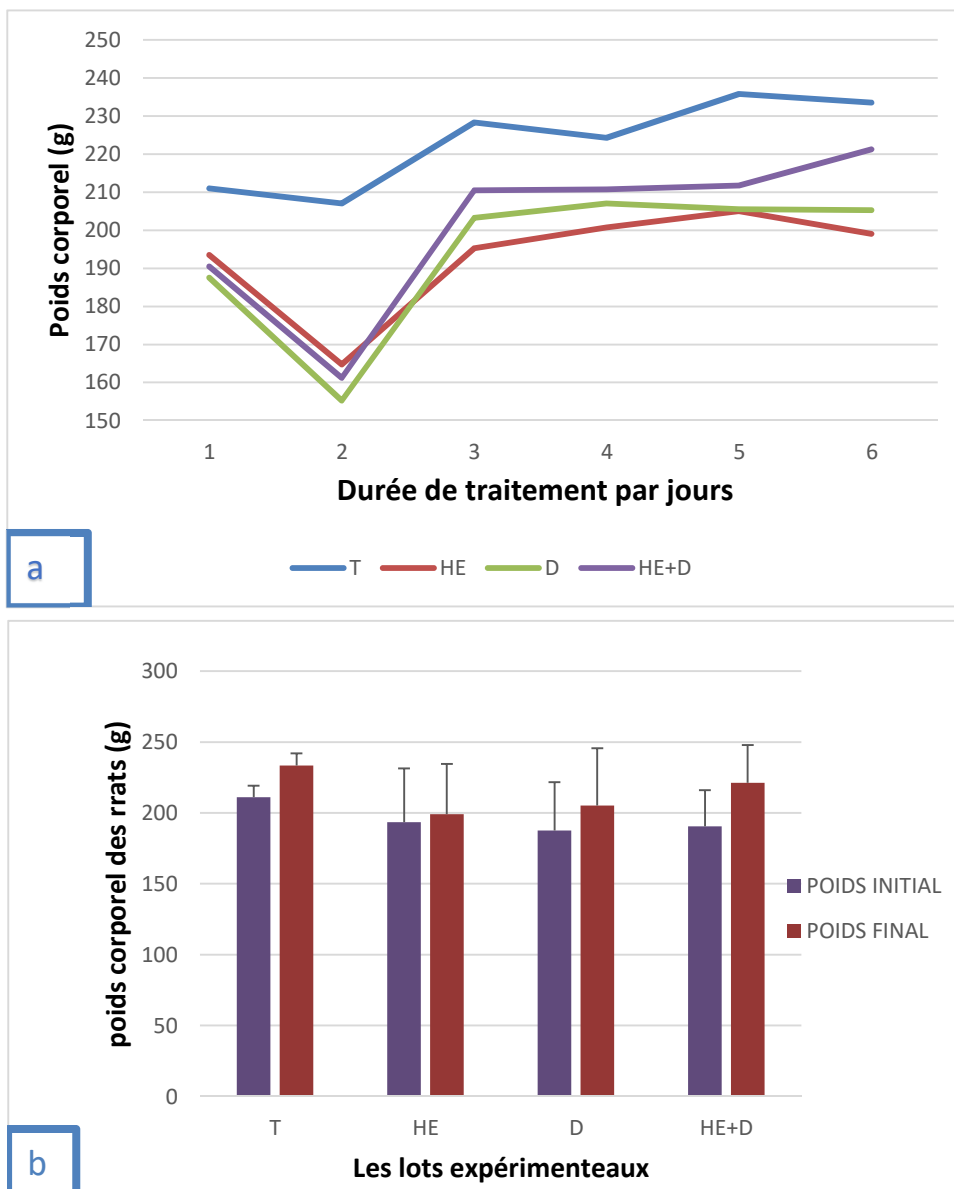


Figure 25. Evolution du poids corporel (PC) chez les différents groupes traités durant 3 semaines par deltaméthrine et l'huile essentielle de *Melissa officinalis* (a) : changement cinétique du poids. (b) : Différence entre poids initial et final.

- Ces mêmes résultats montrent également une perturbation et une diminution non significative de poids corporel chez le groupe traité par la mixture de deltaméthrine et de l'huile, et une diminution aussi non significative chez le groupe traité par deltaméthrine par rapport au groupe témoin. (Fig. b 25).

1.2 Gain de poids (GP)

Les résultats de l'évaluation du gain de poids (figure 26). Présentent une diminution non significative de gain de poids (GP) chez les lots traités par l'huile en comparaison avec le lot témoin. Ces résultats montrent aussi une augmentation non significative de GP chez les rats traités par la mixture de deltaméthrine et d'huile par rapport au groupe témoin et une diminution aussi non significative de GP chez les rats traités par deltaméthrine par rapport aux groupes témoin. On observe une amélioration de gain de poids à chaque fois qu'on associe l'huile de *melisse* au pesticide.

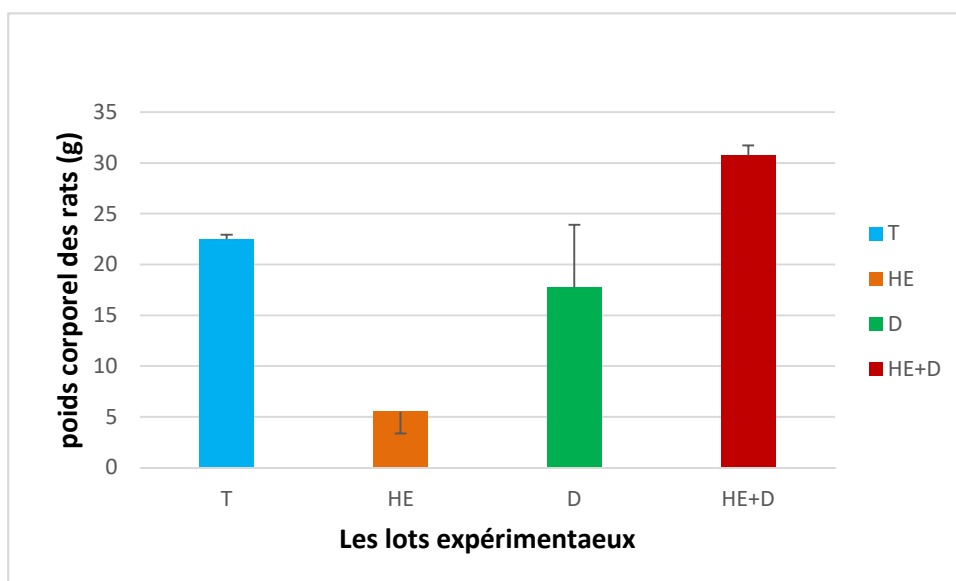


Figure 26. Evolution du gain de poids corporel (GP) chez les rats témoins et traités après 3 semaines par deltaméthrine et l'huile essentielle de *Melissa officinalis* L.

1.3 Variation de la teneur de protéine (Mg/mg d'échantillon) dans les différents lots expérimentaux

Nos résultats montrent une augmentation hautement significative ($p \leq 0.01$) de taux de protéine dans la glande thyroïde chez les traités par la deltaméthrine par rapport aux témoins et aux traités par l'extrait de *Melissa officinalis* et aux traités par la mixture de deltaméthrine et l'extrait de *melissa officinalis*.

Par contre le reste des groupes n'ont montré aucun changement significatif de taux de protéine.

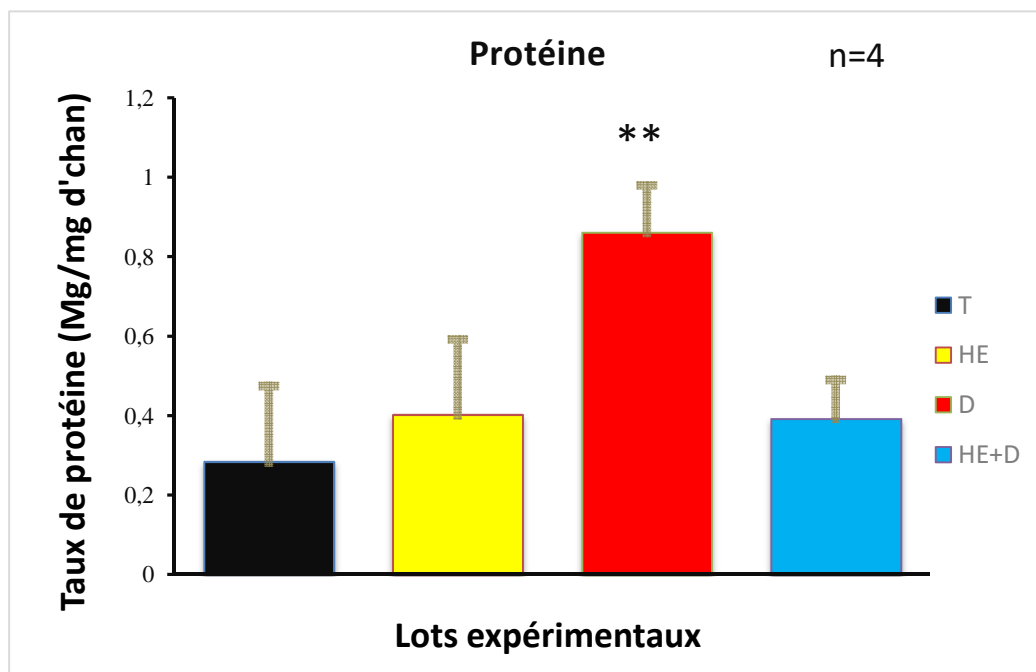


Figure 31. Variation de taux de protéine (mg/mg d'échantillon) dans les différents lots expérimentaux et la comparaison entre les lots **T** : lot de témoin **HE** : lot traité avec l'huile essentielle de la plante *Melissa officinalis*, **D** : lot traité avec la deltaméthrine, **HE+D** : lot traité avec l'huile de la plante +deltaméthrine, p : Seuil de signification

(* : $p \leq 0.05$, ** : $p \leq 0.01$).

1.4 Variation de la teneur en GSH (Nmol/mg protéine) dans les différents lots expérimentaux

Nos résultats montrent une augmentation hautement significative de la teneur en glutathion réduit (GSH) dans la glande thyroïde chez le lot traité par DM par rapport au lot témoin et au lot traité par l'huile essentielle de *Melissa officinalis*, et au lot traité par la mixture d'huile de *Melissa officinalis* et la deltaméthrine.

Par contre on observe une diminution significative chez le lot traité par l'huile essentielle et chez le lot traité par la mixture d'huile essentielle et deltaméthrine par rapport aux témoins.

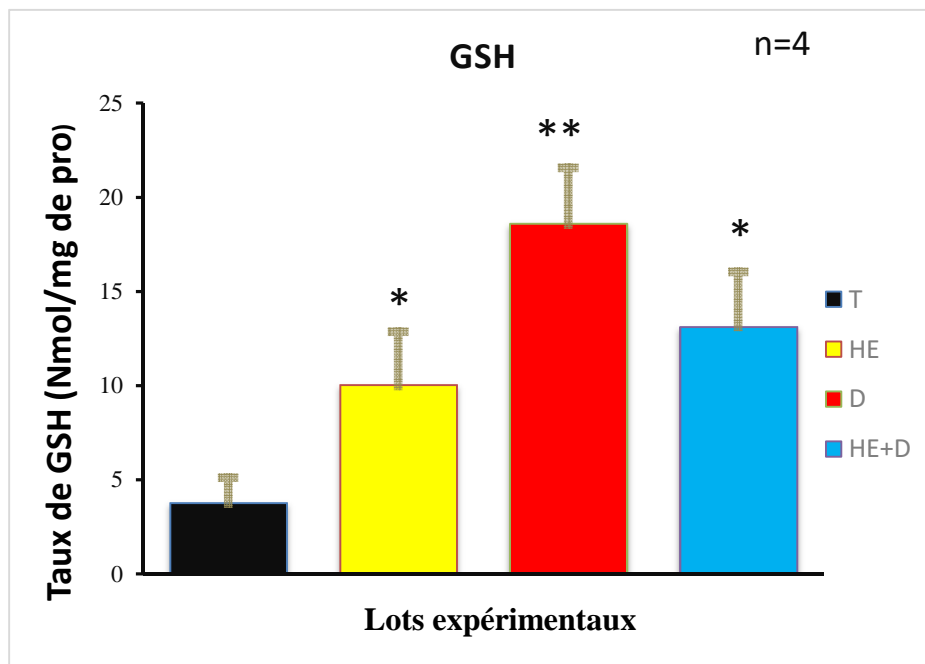


Figure 27. Variation de la teneur en GSH (Nmol/mg protéine) dans les différents lots expérimentaux et la comparaison entre les lots, **T** : lot de témoin, **HE** : lot traité avec l'huile essentielle de la plante *Melissa officinalis*, **D** : lot traité avec la deltaméthrine, **HE+D** : lot traité avec l'huile essentielle de la plante +deltaméthrine, **p** : Seuil de signification (* : $p \leq 0.05$, ** : $p \leq 0.01$).

1.5 Variation de l'activité enzymatique des GSTs (Nmol/mg/min) dans les différents lots expérimentaux

L'administration de la deltaméthrine a 0.64 mg/kg/j chez les rats induit une augmentation hautement significative ($p \leq 0.01$) de l'activité enzymatique de la glutathion-S-transférase (GSTs) dans la glande thyroïde par rapport à ceux témoins.

par contre es résultats ne montrent pas aucune variation significative chez les autres groupes traités.

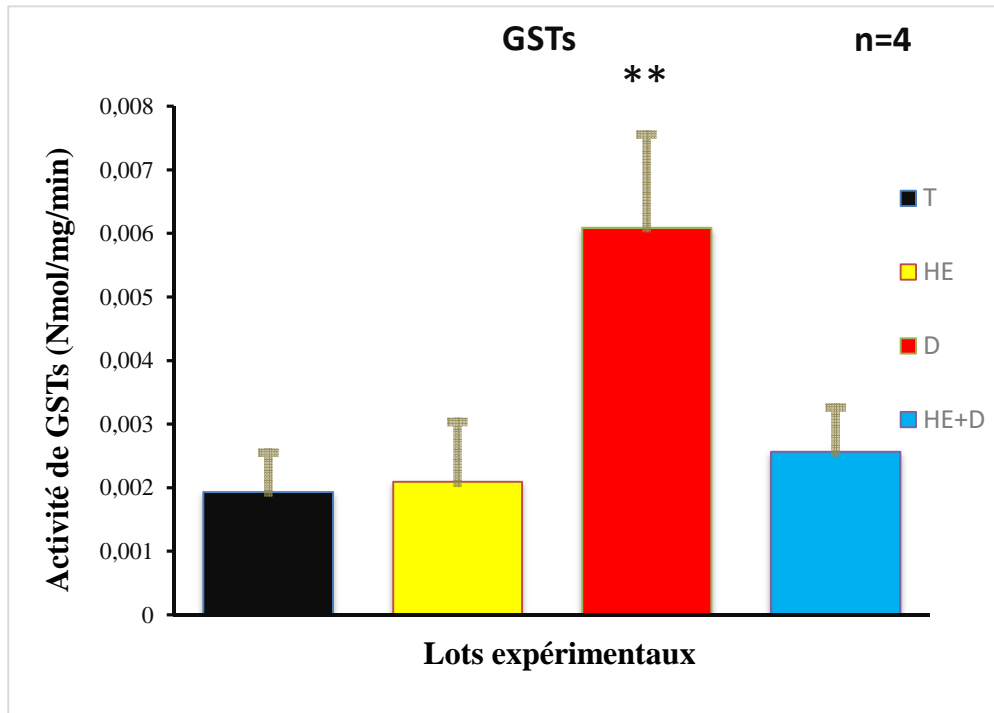


Figure 28. Variation de l'activité enzymatique de GST (Nmol /mg/min) dans les différents lots expérimentaux et la comparaison entre les lots, **T** : lot de témoin, **HE** : lot traité avec l'huile essentielle de la plante *Melissa officinalis*, **D** : lot traité avec la deltaméthrine, **HE+D** : lot traité avec l'huile essentielle de la plante + de deltaméthrine, p : Seuil de signification

(* : $p \leq 0.05$, ** : $p \leq 0.01$).

1.6 Variation de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase GPx (Mmol/min/mg) dans les différents lots expérimentaux

Nos résultats révèlent une diminution hautement significative ($p \leq 0.01$) de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase dans la glande thyroïde chez le lot traité par la deltaméthrine à la dose 0.64 mg/kg/j par rapport au lot témoin et au lot traité la mixture de la deltaméthrine et l'huile essentielle de *Melissa officinalis*.

par contre les résultats ne montrent pas aucune variation significative chez les autres groupes traités.

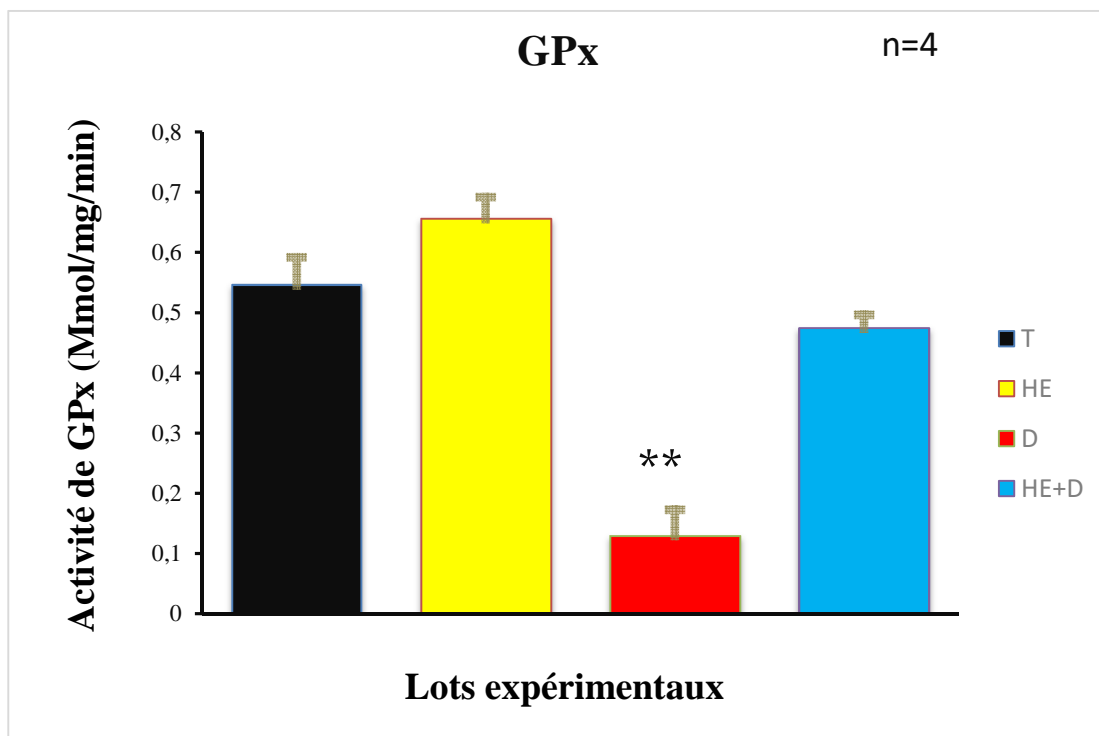


Figure 29. Variation de l'activité enzymatique de GPx (Mmol/mg/min) dans les différents lots expérimentaux et la comparaison entre les lots, **T** : lot de témoin, **HE** : lot traité avec l'huile de la plante *Melissa officinalis*, **D** : lot traité avec la deltaméthrine, **HE+D** : lot traité avec l'huile la plante + deltaméthrine, p : Seuil de signification (* : $p \leq 0.05$, ** : $p \leq 0.01$).

1.7 Variation de la teneur en MDA (Nmol/mg) dans les différents lots expérimentaux

Nos résultats montrent une augmentation significative ($p \leq 0.05$) de concentration tissulaires de malondialdéhyde (MDA) dans la glande thyroïde chez les traités par la deltaméthrine par rapport aux témoins et aux traités par l'huile de *Melissa officinalis* et aux traités par la mixture de deltaméthrine et l'huile essentielle de *Melissa officinalis*.

par contre les résultats ne montrent pas aucune variation significative chez les autres groupes traités.

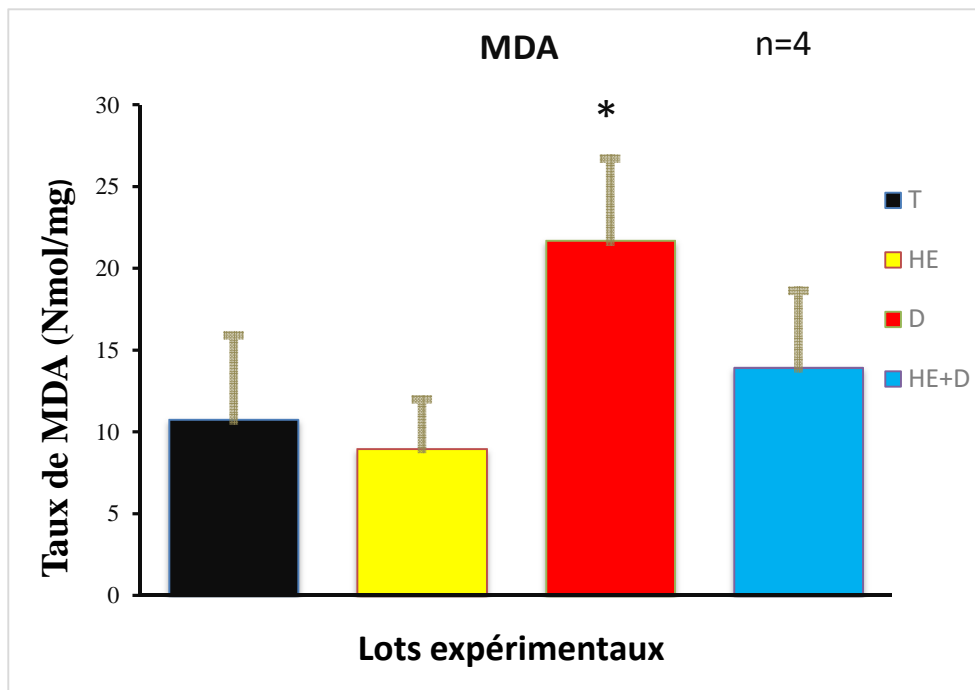


Figure 30. Variation de teneur de MDA (Nmol/mg) dans les différents lots expérimentaux et la comparaison entre les lots, **T** : lot de témoin, **HE** : lot traité avec l'huile essentielle de la plante *Melissa officinalis* **D** : lot traité avec la deltaméthrine, **HE+D** : lot traité par la mixture de l'huile essentielle de la plante et la deltaméthrine, p : Seuil de signification

(* : $p \leq 0.05$, ** : $p \leq 0.01$).

1.8 Effet de traitement sur la thyroïde

Les coupes histologiques de : la thyroïde des rats témoins et de traités au pesticide et la plante médicinale *Melissa officinalis* L., colorés à l'hématoxyline-éosine (H&E) ont été observées et interprétées dans le but de mettre en évidence les éventuelles altérations tissulaires provoquées par ce traitement.

L'observation microscopique de la thyroïde des rats témoins a révélé une architecture normale du tissu contenant :

- ✓ Glande endocrine de type vésiculaire ou folliculaire, Thyroïde entourée d'une capsule conjonctive avec travées conjonctive vasculaires lobules
- ✓ Dans les lobules, des vésicules avec paroi formée d'une seule couche de cellules remplies de colloïde séparées les unes des autres par tissu conjonctif fin, riche en fibres de réticuline et très vascularisé.

L'étude histologique de la glande thyroïde du groupe témoin (planche A) a montré des follicules avec un épithélium régulier rempli du colloïde d'aspect homogène. Chez les groupes traités au deltaméthrine, nous observons une dégénérescence hydropique accompagné d'un épaissement de l'épithélium folliculaire (planche B).

Une dispersion colloïdale caractérisée par la présence des cellules libres dans la lumière chez les rats traité par DM et l'huile du *Melissa* (planche D) et l'infiltration d'œdème chez les rats traité par l'huile de *Melissa* (planche C).

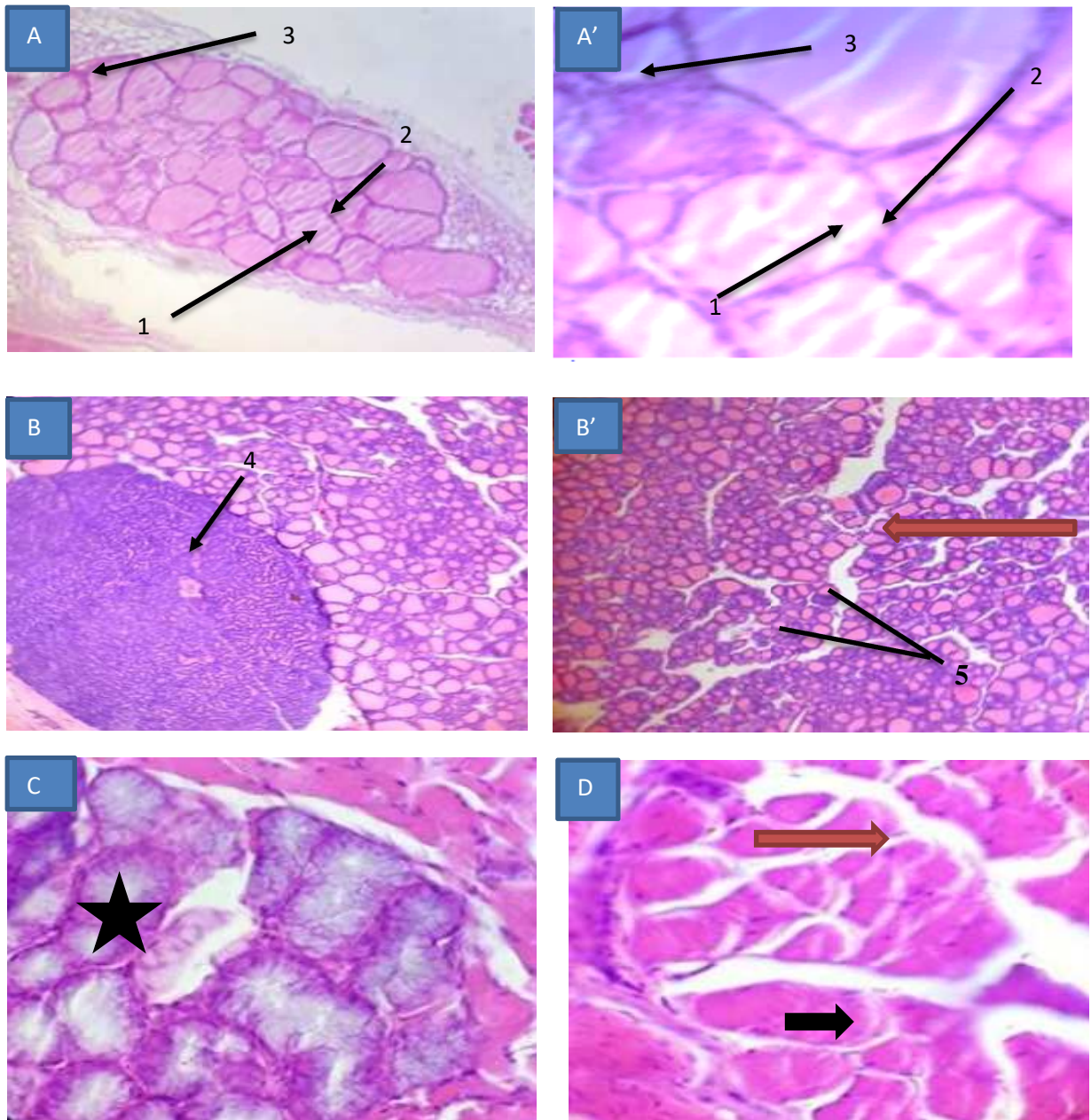


Figure 32. Coupes histologiques de la thyroïde (Gr x40 x10) ; (A) (A') de rats témoins, (B, B') : des rats traités respectivement aux doses de 0.64 mg/kg/ jour au deltaméthrine (C) des rats traités respectivement aux doses de 150 mg/kg/ jour à l'huile *Melissa officinalis* L (D) des rats traités respectivement aux doses de 0.64 mg/kg/ jour au deltaméthrine et de 150 mg/kg/ jour à l'huile *Melissa officinalis* L.

1 : La colloïde, 2 : Epithélium simple, 3 : Follicule thyroïdienne, 4 : parathyroïde, 5 : cellule C

★ Infiltration d'œdème ➡ Dispersion du colloïde ➡ Épaississement de l'épithélium

2. Discussion

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

Dans la présente étude, nous sommes intéressés à la mise en évidence d'un éventuel effet chez le rat exposé à des petites doses plus réalistes possibles de la deltaméthrine (DM) et d'huile de la plante seuls en mixture. Des travaux biologiques étaient plus qu'indispensables pour cerner, d'une manière scientifique.

- **Effets de pesticide (DM) et l'huile essentielle *Melissa* sur les paramètres de la croissance globale**

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 rats. 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 certains cytokines pro-inflammatoires que l'organisme puisse libérer après les effets toxiques des pesticides (**Carole, 2011; Viviana, et al., 2015**). Par ailleurs, l'utilisation interne de la plante *Melissa officinalis*, le traitement des troubles nerveux : stress, anxiété, angoisse, crise de nerfs Problèmes cardiaques : tachycardie lutte contre les infections virales : Herpès labial et génital, zona, névralgies et blessures. Relaxation des muscles et des nerfs : muscles et nerfs tendus (**Neche Zidouma, 2019**).

- **Effets de pesticide (DM) et l'huile essentielle *Melissa* sur l'histologie**

La thyroïde est une glande endocrine, responsable de la synthèse et de la sécrétion des hormones thyroïdiennes. Ces dernières ont un rôle crucial dans la régulation du métabolisme glucidique, protéique, lipidique et phosphocalcique (**Kale, et al., 2006; Wagner, et al., 2008; Yoshimura, 2013**). Cependant, la fonction de la glande thyroïdienne pourrait être activée et altérer ainsi plusieurs processus biochimiques et physiologiques, tels que le métabolisme cellulaire et les paramètres de stress oxydant. L'hypothyroïdisme fait référence à une "déficience" de la glande thyroïde de telle sorte qu'elle produit trop peu d'hormone thyroïdienne (**Haddow, 2010**). La carence en iode était la principale cause d'hypothyroïdie car l'iode est un oligoélément minéral absolument nécessaire à la vie et à la production des hormones thyroïdiennes T3 et T4 (**OMS, 2009**). Certaines études ont rapporté que l'exposition humaine aux pesticides est associée à la perturbation du taux d'hormones thyroïdienne (**Meeker, et al., 2007; SCHELL, et al., 2004**).

L'observation histologique a révélé des lésions des follicules thyroïdiennes avec une dispersion colloïdale chez les groupes traités à l'exposition au DM est à l'origine des dommages des follicules de la thyroïde et des lésions dans le trauma, Les mêmes résultats sont rapportés pour l'imidaclopride et ses métabolites comme responsables des lésions de la thyroïde chez les rongeurs après une exposition aigue à des doses élevés (**Zaror, et al., 2010**). L'hypertrophie et l'hyperplasie des cellules épithéliales suite à l'exposition à la deltaméthrine peuvent avoir contribué à des changements dans la glande thyroïde une dégénérescence et une apoptose des cellules folliculaires ont été remarquées chez les rats exposés la DM.

Dans une autre étude histopathologique de la thyroïde des rats traités au carbendazime à une dose de 300 mg/100g pendant 30 jours, il a été révélé des changements dégénératifs et atrophiques dans les cellules épithéliales par rapport aux cellules témoins (**Gawande, et al., 2009**).

- **Effets de pesticide et l'huile essentielle *Melissa* sur le stress oxydatif**

D'après les résultats obtenus de cette étude, l'exposition des animaux au pesticide seuls ou en mixture présente un déséquilibre du statut redox tant cytosolique que mitochondrial dans la thyroïde le stress oxydatif caractérisé par une chute significative du potentiel antioxydant. En effet, la peroxydation lipidique est accentuée et une perte énorme de la teneur cellulaire en GSH et l'activité anti oxydases telles que, le GPx, GST, MDA, GSH.

Le GSH est un tripeptide bien connu pour être un élément de la première ligne de défense contre le stress et considéré dès lors un composé essentiel qui maintient l'intégrité cellulaire grâce à sa propriété réductrice et sa participation active dans le métabolisme cellulaire (**Sauer, 2014; Aoun, et al., 2016**).

Certains des rôles importants de glutathion sont la réduction ou l'inactivation des ROS par la formation de glutathion disulfure (GSSG) et la conjugaison du glutathion réduit (GSH) pour l'élimination des xénobiotiques (**Arora, et al., 2016; Di Monte, et al., 2002**).

Les résultats obtenus de l'évaluation de GSH tant dans le cytosol que dans la matrice mitochondriale après l'exposition chronique des animaux aux pesticides, ont présenté une augmentation significative de sa teneur dans La thyroïde Ce constat expérimental est tout à fait en adéquation avec les travaux réalisés par (**Chakroun, et al., 2016; Beghoul, et al., 2017**). Qui ont rapporté une augmentation de MDA comme étant indicateur de la lipo-peroxydation médiée par les ROS sous l'effet de ces pesticides. La GPx est une enzyme antioxydant clé qui règle le niveau des ROS dans les cellules (**Datta, et al., 2003; Henine, et al., 2016**).

Une séléno-enzyme unique dans les cellules de mammifères, qui catalyse les réactions de réduction des peroxydes organiques et inorganiques, en utilisant le glutathion réduit comme donneur de protons, ce qui provoque l'oxydation de glutathion réduit (GSH) en glutathion oxydé (GSSG) et la production d'alcool primaire non toxique (**Cory-Slechta, et al., 2005; Kebieche, et al., 2009**). Généralement, la GPx favorisent et accélèrent grandement le transfert de H₂O₂ en H₂O par des mécanismes différents. L'inhibition de GPx, et l'induction de GST expliquent les quantités élevées des ROS produites après l'intoxication par les pesticides DM seuls ou en mixture. Les résultats de ce travail montrent une diminution significative des activités enzymatiques de GPx dans les mitochondries que dans le cytosol de la thyroïde totale, chez les rats exposés chroniquement aux DM. Mais on montre une augmentation significative chez les rats traité par l'huile de *Melissa*, par contre protéines montrent une augmentation significative chez les rats traités par DM, traduit par la synthèse des enzymes et peptides de défense contre le déséquilibre du stress oxydant, et une diminution chez les rats traité par l'huile de *Melissa officinalis L.*

La conjugaison des métabolites réactifs avec GSH peut inactiver ces composés et prévenir la formation des adduits avec l'ADN. Généralement l'augmentation de l'expression de la GST est observée quand la cellule est stressée (**Di Monte, et al., 1992**). Aussi, les résultats obtenus de cette étude ont montré une augmentation du MDA chez les traités par (DM) et diminution du MDA chez les traités par l'huile.

Ces résultats sont en accord avec beaucoup de travaux consultés dans la littérature (**Beghoul, et al., 2017; Lin MT, et al., 2006**). La famille enzymatique des GSTs est impliquée dans les processus de la détoxification. En outre, une fonction importante de GSTs, en réponse au stress oxydant est sa capacité de conjuguer le GSH avec les produits de la peroxydation lipidique (**Manawadi, et al., 2010**).

L'utilisation d'huile de plante (*Melissa officinalis L*) à comme protectrice contre les effets délétères des pesticides a amélioré de façon très significative le statut redox tant dans le cytosol que dans les mitochondries de la thyroïde total.

Activités biologiques des huiles essentielles et le rôle physiologique des huiles pour le règne végétal est encore inconnu. Cependant, la diversité moléculaire des métabolites, leur confère des rôles et propriétés biologiques (**Neché Zidouma, 2019**)

En conclusion cette étude indique que la toxicité par la DM, seuls ou en mixture, pourrait endommager les cellules folliculaires totales de la thyroïde.

En revanche, le traitement par l'huile de *Mélissa* amélioré l'activité de dans la thyroïde chez les rats traités par la DM. Beaucoup d'huiles essentielles ont des propriétés médicinales qui

ont été utilisées en médecine traditionnelle depuis des temps très anciens et qui sont largement répandues toujours aujourd'hui.

*Conclusion et
Perspectives*

Conclusion et perspectives

L'objectif de ce travail de recherche est d'explorer le statut du stress oxydant induit par un insecticide carbamate deltaméthrine chez le rat et de tester les effets protecteurs de la Supplémentation en extrait d'une plante médicinales *Melissa officinalis L* sur cette toxicité

Les résultats obtenus nous ont permis de tirer les conclusions suivantes :

- ✓ Des perturbations au niveau de la croissance générale des rats : (Diminution du poids corporel durant la période de traitement)
- ✓ Pesticides DM provoquent également des altérations dans le bilan de stress oxydatif qui traduit par une perturbation de taux de GSH et MDA, l'activité de Protéine, GPx, GST, mitochondrial et cytosolique, la respiration, le gonflement et la perméabilité mitochondrial
- ✓ Une modification du statut antioxydant est notée chez ces rats qui montrent une augmentation des teneurs glande thyroïdienne en malondialdéhyde en faveur d'un stress oxydatif évident. Les teneurs en glutathion réduit et glutathion peroxydase sont significativement réduites au niveau GT chez les rats traités par deltaméthrine Il est possible que DM agît comme un générateur de radicaux libres altérant les systèmes de défense des différents organes.
- ✓ L'étude histologique réalisée sur des fragments de la thyroïde, a montré des modifications histopathologiques chez les groupes traités au deltaméthrine. En effet les résultats illustrent clairement de la thyroïde révélée par une dégénérescence des cellules de follicules thyroïdiens. Il semble donc que le DM est cytotoxique au niveau de la thyroïde.

Nos résultats permettent d'affirmer la toxicité du deltaméthrine chez l'animal de laboratoire. Les recherches en termes de santé concernant l'exposition aux pesticides ont bien démontré jusqu'à présent ses effets très néfastes sur l'organisme humain.

En perspective, il serait intéressant de développer ces recherches d'un point de vue opérationnel par approfondissement de la connaissance sur l'appréciation de la détoxification de l'organisme.

Ces travaux ouvrent un certain nombre de perspectives qu'il serait souhaitable de :

- ✓ De développer le but de cette étude par le dosage des autres biomarqueurs par des autres appareille sophistiqués (HPLC, ELISA, CPG...).
- ✓ Prolonger la durée d'exposition des animaux afin de savoir si les perturbations fonctionnelles et moléculaires pourraient aboutir à l'apparition des pathologies.

- ✓ Utiliser des animaux à différents stades de développement pour voir si l'âge influencerait sur le degré de toxicité du DM
- ✓ Etudier enfin, autre effet protecteur des antioxydants naturels contre la toxicité induite par DM chez le rat ou d'autres modèles expérimentaux, exemple : la thyroïde d'hérisson
- ✓ Il est aussi intéressant d'approfondir le fonctionnement thyroïdien par l'utilisation des techniques biochimique plus crédible telle que, l'autoradiographie. Cette technique permet de suivre l'activité d'une dose traceuse de l'iode radioactif (I_{131}) dans la thyroïde.
- ✓ Effectuer des études sur un mélange de ce pesticide et un autre afin d'évaluer la toxicité du mélange.
- ✓ Il est aussi intéressant d'approfondir le fonctionnement thyroïdien par l'utilisation de
Les analyses des hormones T4. T3. TSH

Bibliographie

- Bibliographie

-A-

- Ademe. 2004. Polluants Organiques Persistants. [En ligne] 2004.
<http://www.ademe.fr/entreprises/polluant.asp?ID=49>.
- Afssaps. 1998. Les médicaments à base de plantes (avis aux fabricants) Les groupe de réflexion L'analyse du contenu de l'avis aux fabricants, Cahiers de l'Agence. 1998.
- Agarwal, A et and Prabakaran, S. A. 2005. Mechanism, measurement, and prevention of oxidative stress in male reproductive physiology.". 2005.
- Aoun, M et Tiranti V. 2016. Mitochondria: A crossroads for lipid metabolism defect in neurodegeneration with brain iron accumulation diseases. Inter Journal Bioch & Cell Bio 01-018. 2016.
- Arias-Estévez, M, et al. 2008. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. s.l. : Agriculture Ecosystems & Environment 123(4): 247-260, 2008.
- Arora, D et Haris S, Kumar S, Pratap S, Tripathi A, Mandal A,. 2016. Evaluation and physiological correlation of plasma proteomic fingerprints for Deltamethrin inducedhepatotoxicity in Wistar rats. LFS 14866: 04-025. 2016.
- Asogwa, EU et Dongo, LN. 2009. Problems associated with pesticide usage and application in. Nigerian cocoa : production: A review. Afr J Agr Res. 2009; 4: 675-683., 2009.

-B-

- Baillie, JK., Bates MGD., Thompson AAR., Waring WS. et schnopp MF., simpson A., Guliver-Sloan F. Maxwell .SRJ., Web Dj. 2007. Lowland Subjects Exposed to Hight Altitude Plasma Antioxidant capacity In Healthy Engogenous Urate Production Augments.Chest .131. 1473-1478. 2007.
- Bakhti Sari, F. 2017. “ Hypothyroïdie: impact sur les troubles métaboliques et du statut Oxydant/antioxydant chez les femmes de la région de tlemcen "thèse de doctorat". 2017.
- Baldi, I, et al. 2013. Pesticides, effets sur la santé. Exp collect Inserm 8-12. 2013.
- Barboni, T. 2006. Contribution de méthodes de la chimie analytique à l’amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d’incendie. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l’université de Corse, p26. 2006.

- Barriuso, E. 2004. Estimation des risques environnementaux des pesticides. Editions INI 12-34pp. 2004.
- Bationo, F., Savadogo, A., Kabore, D., Ouattara, L et A, ouedraogo H.G Savadogo. B and Traore. 2015. . "Storage influence on beta-carotene and alpha- tocopherol contents of solar-dried *Spirulina platensis* (*Spirulina*)." African Journal of Food Science. 2015.
- Baudin, B. 2006. "Oxidative stress and cardiovascular pathology." MT Cardio, 2(1), 43-52. 2006.
- Bazzi, LH. 2010. Etude de la persistance de quelques pesticides dans la culture de l'haricot vert dans. la région de Souss Massa; Agadir : [Thèse de doctorat en science, spécialité Environnement]. Université Ibn Zohr, Ecole nationale des sciences appliquées, 2010.
- Beghoul, A et Kebieche M, Gasmi S, Chouit Z, Amiour C, Lahouel. 2017. Impairment of mitochondrial integrity and redox status in brain regions during a lowdose long-term exposition of rats to pyrethroids: the preventive effect of quercetin. Environ Sci PollutRes Doi : 10.1007/s11356-017-9675-0. 2017.
- Belhaouchet, N. 2014. Evaluation de la toxicité du Spinosad « insecticide nouvellement introduit en Algérie » sur un modèle expérimental bioindicateur de la pollution « *Helix aspersa* ». Annaba. 17-82 : These Doctorat LMD Universite Badji Mokhta, 2014.
- Ben Yachou, B, M. 2013. "La pathologie thyroïdienne chez L'enfant: prise en charge Chirurgicale étude rétrospective à propos de 13 cas"Thèse de médecine". 2013.
- Benzaim, karima. 2019. Investigation histopathologique et toxicologique après exposition subchronique à l'Exirel des rats Wistar. tebessa : s.n., 2019.
- Berset, C et M.E., Cervelier. 1996. Methods of estimating the degree of lipid oxydation and of measuring antioxidizing power. Sciences des Aliments.16, 219-245. 1996.
- Bonnefont, et al. 2003.. Les vitamines dans les industries agroalimentaires.Editions TEC & DOC, Paris. 708p. 2003.
- Bonnefont-Rousselot D., Théron P., Delattre J.. 2003.. Radicaux libres et antioxydants. 2003.
- 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. 2013.
- Bradberry, SM, et SA, Cage. 2005. Proudfoot AT and Allister-Vale J (2005) Poisoning due to Pyrethroids.Toxicological Reviews 24 : 93-106. 2005.
- 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. 1976.

- Brouet, C. 2011. "Les pathologies thyroïdiennes : enquêtes sur le ressenti des Patients.thèse de médecine"Université'Henri poinare-nancy1.110". 2011.
- Bruneton, J. 1993. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Lavoisier, 2ème Ed, Paris.623. 1993.

-C-

- Cai, H et DG, Harrison. 2000.. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress *Circ Res* 87(10) 840-844. 2000.
- Calvet, R. 2005. Barriuso E, Bedos C, Benoit P, Charnay MP, Coquet Y. Les pesticides dans le sol : Conséquences agronomiques et environnementales. France ; France Agricole. France : s.n., 2005.
- Camard, JP. 2010. Produits phytosanitaires risques pour l'environnement et la santé ; 2010.
- CARLE, P.R. 1985. Mode d'action et utilisation des pyréthriinoïdes p23940.In : Insectes, insecticides, santé : colloque national Anger, 19-22 Novembre 1985, Paris, Acta. 1985.
- Carnat, AP, et al. 1998. The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) tea - *Pharm Acta Helv*, 72 , pp. 301-305. 1998.
- Carole I and Harvé, Q. 2011. Désordres métaboliques et réanimation : de la physiopathologie au traitement. Berlin Heidelberg. New York. ISBN : 978-2-287-99026-7. 522pp. 2011.
- Chakroun, S et Grissa I, Kerkeni E et al. 2016. Hematological, biochemical, and toxicopathic effects of subchronic acetamiprid toxicity in Wistar rats. *Environ Sci Pollut Res*. Doi: 10.1007/s11356-016-9. 2016.
- Clarkson PM., Thompson HS. 2000.. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *American Journal of Clinical Nutrition*. 72(2): 637-646. 2000.
- Cooper, J et H, Dobson. 2007. The benefits of pesticides to mankind and the environnement. *Crop. s.l. : Protection*. 2007 ; 26(9): 1337-1348, 2007.
- Cory-Slechta, Da, T et Thiruchelvam M, Richfield Ek, Barlow Bk, Brooks A. 2005.
- Couteux A, et Salaün C. 2009. Index phytosanitaire de l'Association de Coordination Technique. s.l. : Agricole. 45ème éd. France. Mame, 2009.

-D-

- Damalas DA ; Eleftherohorinos IG. 2011.. Pesticide Exposure, Safety Issues and Risk Assessment. s.l. : Indicators. *Int J Environ Res Public Health*. 2011 ; 8 : 1402-1419., 2011.

- Datta, M et A, Kaviraj. 2003. Acute Toxicity of the Synthetic Pyrethroid Deltamethrin to Freshwater Catfish *Clarias gariepinus* 296-299. 2003.
- Delattre, J, J.L, Beaudoux et D., Bonnefont-Rousselot. 2005. Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales. Paris 450 p. 2005.
- Di Monte, D et Chan P, Sandy MS. 1992. Glutathione in Parkinson's disease: a link between oxidative stress and mitochondrial damage. *Ann Neurol* 32(1): 111-115. 1992.
- Di Monte, D et M, Lavasani. 2002. Manning-Bog Ab. Environmental factors in Parkinson's disease. *Neurotoxicology* 23: 487-502. 2002.
- Dikalov S., Griendling K.K., Harrison D.G. (. 2007. Measurement of reactive oxygen species in cardiovascular studie. *Hypertension* 49(4) 717-729. 2007.
- Djeflal, Assia. 2013. Evaluation de la toxicité d'un insecticide carbamate « méthomyl » chez le rat Wistar : Stress oxydant et exploration des effets protecteurs de la supplémentation en sélénium et/ou en vitamine C ; thèse annaba. 2013.
- Douris, PC., Elokda AS., Handrakis JP., Principal S., Rondo E., Bovell J., Coughlin WP., Mastroianni CN., Wong MJ., Zimmerman T. 2009. Martial art training enhances the glutathione antioxidant system in middle-aged adults. *J. Strength Cond. Res.* 23(5) : 1518-23. 2009.
- Duarte, T.L et G.D.D, Jones. 2007.. Vitamin C modulation of H₂O₂-induced damage and iron homéostasis in humain cell. *free radicals biology and medecine* 43. 1165-1175. 2007.
- Duval, M. 2009. L'histoire des phytosanitaires de l'origine à 2030. Santé sécurité au travail. 2009.

-E-

- EL Bakouri, H. 2006. Contribution à la réduction de leur impact sur les eaux par utilisation des substances Développement de nouvelles techniques de détermination des pesticides et. Tanger : [Thèse de doctorat]. Tanger : Université Abdelmalel Essaadi, 2006.
- Ecobichon, D.J. 2001. Carbamate Insecticides. In : Krieger R., Doull J., Ecobichon D.J., Gamnon D., Hodgson E., Reiter L., Ross J. (Eds.). *Handbook of Pesticide Toxicology*. 2nd edition. Academic Press, New York. 1087-1107. 2001
- Esterbauer, H, et al. 1992. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med* 13 : 341. 1992.

- Even, I, Berta et JL, Volatier. 2002. Evaluation de l'exposition théorique des nourrissons et des enfants en bas âge aux résidus de pesticides apportés par les aliments courants et infantiles. 2002.
- Eymard, S. 2003. Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés. Thèse Doctorat, université de Nantes, France, 277. 2003.

-F-

- Faivre, Cl Lejeune L, H, Staub et P, Goetz. 2006.. *Zingiber officinale* Roscoe, *Phytothérapie*, 2 : 99-102p. 2006.
- Favier A. 1997. Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann. Bio. Clin* 55(1) 9-16. 1997.
- Fillatre, Y. 2011. Produits phytosanitaires : Développement d'une méthode d'analyse multi résidus. s.l. : [Thèse de doctorat, spécialité chimie analytique]. Angers : Ecole, 2011.
- Finaud, J, G, Lac et E., Filaire. 2006.. Oxidative Stress. Relationship with Exercise and training sport med 36(4) ;327-358. 2006.
- Flohe et Gunzler . 1984. Analysis of glutathione peroxidase, *Methods Enzymol* 105 : 114-121. 1984.
- Fukuto, R.T. 1990. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. *Environmental Health Perspectives*. 87 : 245-254. 1990.

-G-

- G, Weckbercker. 1988. Ribonucleotide reductase activity and growth of Glutathionedepended mouse Leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letter* 40: 257-264. 1988.
- Gardès-Albert, M, Rousselot, Bonnefont- et D., Abedi. 2003. "Espèces réactives de l'oxygène." *L'actualité chimique*, 91. 2003.
- Gasmî, Salim, 2018. Neurotoxicité de deux pesticides (Acetamipride et Deltamethrine) et laprévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat. tebessa : Thèse Doctorat, 2018.
- Gatignol, MC, et Étienne, M JC. 2010. Pesticides et santé. Assemblée nationale sénat, constitution du 4. s.l. : octobre 1958 .2010. Rapport n° 2463., 2010.
- Gaulin et Guelmane. 2013. les maladies thyroïdiennes, le guide de la thyroïde. Ed Fine. 2013.

- Gawande, MR et Ganaie JA, Ramtake A, Shrivastava VK. 2009. Carbendazim induced histopathological changes in Testis and Epididymis and some enzymes activities in testis of 12 (1): 153-156. 2009.
- Ghedira, K. 2005. Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, role prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, pp.162-169. 2005.
- Goto, M, et al. 2008. A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'déoxythymidine. *Free radical biology and medecin*.45.1318-1325. 2008.
- Grandjean, D. 2005. Comprendre le stress oxydatif cellulaire chez le chien. *Le Nouv. Prat.* 2005.
- Guler, GO, et al. 2010. (2010) Organochlorine pesticide residues in wheat from Konya region. Turkey : *Food and Chemical Toxicology* 48 : 1218-1221, 2010.
- Gurgnard, J.L. 2000. *Biochimie végétale*, Préface de Pierre Potier, 2ème édition de l'abrégé Ed : Dunod, Paris : 163-175. 2000.

-H-

- Habig, WH, MJ, Pabst et WB, Jakoby. 1974. Glutathione-S-transferase the first step in mercapturic acid formation. *Journal of Biology and Chemistry* 249: 7130-7139. 1974.
- Haddow, JE. 2010. Hypothyroidism: detecting and treating early symptoms as the body's energy rheostat is slowly turned down. *Journal of Medical Screening*. 17(4) :163. 2010.
- Halliwell et Gutteridge, B J. M. C. 2008. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Fourth Edition. Oxford University Press. Citer dans la Thèse de Doctorat (2015) : Implication du stress oxydant dans plusieurs affections du cheval athlète : revue bibliographique, 44-61 p. 2008.
- Halliwell, B. 1990. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic. Res. Commun.*13. 1-32. 1990.
- Harout, D. 2008. "Étude bibliographique de l'évolution du diagnostic clinique de L'hypothyroïdie et de l'utilisation de lévothyroxine dans l'espèce canin." Thèse de médecine. École nationale vétérinaire de Lyon 109. 2008.
- Hazzit, M. 2008. Etude de la composition chimique des huiles essentielles de différentes espèces de thym et d'origan poussant en Algérie. Thèse doctorat, USTHB, Alger, 204.7. 2008.
- Hellsten, Y., Svensson M., Sjödin B., Smith S., Christensen A., Richter EA., Bangsbo J. 2001. Allantion formation and urate and glutathione exchange in human muscle during submaximal exercise . *Free Radic..biom .Med* 31(11) 1313-1322. 2001.

- Henine, S, et al. 2016. Oxidative stress status, caspase-3, stromal enzymes and mitochondrial respiration and swelling of *Paramecium caudatum* in responding to the toxicity of Fe₃O₄ nanoparticles. *Environ Health Sci* 8(2): 161-167. 2016.
- Hervé, G. 2009. Physiologie endocrinienne, In : physiologie humaine, éd. Wolters Kluwer, 2009.
- HERVE, JJ. 1982. Le mode d'action des pyréthrinoïdes et le problème de résistance à ces composés In : Deltaméthrine monographie, ROUSSEL-UCLAF, septembre 1982, 67-107. 1982.
- Hultin, H.O. 1992. Lipid Oxydation in Fish Muscle. In : Advances in seafood in biological systems. *Food Science and Nutrition*, 25, 317. 1992

-I-

- IPCS, INCHEM. 1990. Deltamethrin. Environmental health criteria EHC 97. WHO. Consultable sur le site. [En ligne] 1990. www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc97.htm/.

-K-

- Kale, MK et Umathe SN, Bhusari KP. 2006. Oxidative Stress and the Thyroid. *Positive Health*. 24-27. 2006.
- Kamara, O. 2002. "le goitre multinodulaire." Thèse de médecine. Université de cheikh Anta Diop de Dakar. 35. 2002.
- Kamboj, R, Kiran et R, Sandhir. 2006. Carbofuran-induced neurochemical and neurobehavioral alterations in rats : attenuation by N-acetylcysteine. *Experimental Brain*. 2006.
- Kebieche, M, et Lakroun Z, Lahouel M, Bouayed J, Meraihi Z, Soulim. 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. 2009.
- Kim, D.k et C.Y, Lee. 2004. Comprehensive Study on Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Various Polyphenolics in Scavenging a Free Radical and its Structural Relationship. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2004.
- Knert, P, et al. 2002. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *The American journal of Clinical Nutrition*. 76, 560-568. 2002.
- Koolman, J et K-H, Röhm. 2004.. Atlas de Poche de Biochimie. 3e édition. Flammarion, 2004.

- Kothe, HW. 2007. 1000 Plantes aromatiques et médicinales. Terres Editions. ISBN:978-2-35530-pp003-5. 2007.
- Kress, E. 2007. “ Etude du rôle du récepteur aux hormones thyroïdiennes TRalpha 1 Dans la prolifération normale et pathologique de l'épithélium intestinal”. Thèse de doctorat en Biologie Moléculaire Intégrée et Cognitive. Université de de Lyon Ecole Normale Supérieure. 2007.

-L-

- La ReSergent, O, B, Griffon et P, Cillard. 2000.. Alcool et stress oxydatif. pathol biol. 49 -689-695. 2000.
- Laurence, Marthe et PETIT, Irène. 2002. PETIT EFFICACITE COMPAREE, EN LABORATOIRE, DU FIPRONIL ET DE LA DELTAMETHRINE PAR CONTACT TARSAL SUR *Glossina morsitans morsitans* ET *Glossina palpalis gambiensis* THESE pour obtenir le grade de DOCTEUR VETERINAIRE THESE. toulouse : 2002 – TOU 3 – 4116, 2002.
- Lauvverys, R, H, Vincent et L, Dominique. 2007. Toxicologie industrielle et intoxication professionnelles Masson 31-288pp. 2007.
- Lin MT et Beal MF. 2006. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. Nat 787-95. 2006.
- Lisu, W, et al. 2003. Antioxidant effect of methanol extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbonucifera* Gertn). Journal of food and drug analysis, 11(1) : 60-66. 2003.
- Lukaszewicz-Hussain, A. 2008. Subchronic intoxication with chlorfenvinphos, an organophosphate insecticide, affects rat brain antioxidative enzymes and glutathione level. Food Chem Toxicol 46(1) : 82-. 2008.
- Lyn Patrick, ND. 2006.). Lead Toxicity Part II : The Role of Free Radical Damage and the Use of Antioxidants in the Pathology and Treatment of Lead Toxicity. Altern. Med. Rev. 11(2) 114-127. 2006.

-M-

- Mac Laren, D. 2007. Advances in sports and exercise science series. Nutrition and Sport. 8. antioxydant and free radicals by close GL and MC Ardle. F. Elsevier. 2007.

- Manawadi, S.I. et B.B., Kaliwal. 2010. Methomyl induced gonadal dysfunction, biochemical contents and enzyme activities in male albino mice. *International Journal of Biotechnology Applications*. 2(2): 20-32. 2010.
- Maran, et al. 2009. Effects of four carbamate compounds on antioxidant parameters. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2009.
- Marc, F, et al. 2004.. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Médecine/sciences*, 20(4), pp.458-463. 2004.
- Martin, S et R, Andriantsitohaina. 2002. Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphénols on the endothelium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*.51, 304-315. 2002.
- Masson, P. 2014. "Désordres thyroïdiens et attitude de l'odontologiste." Thèse de Médecine. Université de Lorraine. 89. 2014.
- Mebarki N. 2010. Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse – antimicrobienne. Magister, Génie des procédés chimiques et pharmaceutiques, Université M'hamed Bougara Boumerdes, 1 ; 14. 2010.
- Meeker, JD et Altshul L, Hauser R. 2007. Serum PCBs, p,p'-DDE and HCB predict thyroid hormone levels in men. *Environmental Research*.104: 296-304. 2007.
- Meister, RT. 1991. *Farm chemicals handbook 91*. Meister Publishing Company, willoughby ohio. 1991.
- Merhi, M. 2008. Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caract. Thèse de doctorat. Université de Toulouse. 2008. Inscription dans les collèges locaux, 2005 : érisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin, 2008.
- Morelle, J. 1988. Peroxydes lipidiques, radicaux libres, vieillissement et lipoprotéines : Parfums, Cosmétiques, Arômes. 1988.

-N-

- Neche Zidouma. 2019. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Mélicha officinalis* Mémoire présenté pour l'obtention master. 2019.
- Nicolai B. 2009. Species protection: Red Kite – The current situation in Germany (Sachsen-Anhalt). *Naturschutz und Landschaftsplanung*.2009; 41(3): 69-77. Germany : s.n., 2009.

-O-

- Oerke, EC et HW, Dehne. 2004. Safe guarding production-losses in major crops and the role of crop. s.l. : protection. Crop Pro 23: 275-285, 2004.
- OMS . 1999. WHO monographs on selected medicinal plants - Volume 2 - Genève : Organisation Mondiale de la Santé (OMS) P.357. 1999.
- OMS . 2009. Organisation Mondiale de La Santé. Publications, Vitamin and mineral requirements in human nutrition - Iodine, OMS. 14. Mayo Clin Proc.84(1):65-71. [En ligne] 2009. <http://whqlibdoc.who.int>.
- Ozden et Catalgol B., Gezginici-Oktayoglu S., Arda-Pirincci. 2009. Methiocarb-induced oxidative damage following subacute exposure and the protective effects of vitamin E and taurine in rats. Food and Chemical Toxicology. 47: 1676-1684. 2009.

-P-

- Picó Y, Font G et Mañes J. 2004. Handbook of food analysis. 2nd Ed. New York : Nollet, Marcel Dekker; 2004.p.1072. 2004.
- Pimentel, D. 1995. Amounts of pesticides reaching target pest: environmental impacts and ethics Journal of Agricultural and Environmental Ethics 8: 17-29. 1995.
- Poknory, J, N, Yanishlieva et H., Gordon. 2001. Les antioxydants dans les aliments. Les applications pratiques. Woodhead Publishing limited. CRC Press. Cambridge Angleterre. 2001.
- Power, AG. 2010. Ecosystem services and agriculture: Trade offs and synergies. Phil Trans R Soc. s.l. : 2010; 365: 2959-2971, 2010.
- Powers, S et M., Jackson. 2008. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production .physiol.Rev 88. 1243-1276. 2008.
- Pyabalo, aklesso kadala. 2015. Action des pyrethrinoides sur le canal sodique active par le potentiel des neurones du systeme olfactif de l'abeille domestique apis mellifera. Doi :10.3389/fncel.2015.00124. 2015.

-R-

- Ramirez, DC, et al. 2008. Cu/Zn-Superoxide Dismutase-driven Free Radical Modifications: Copper- and Carbonate Radical Anion-initiated Protein Radical Chemistry. Biochemical Society. 10: 1-25. 2008.
- Ribereau-Gayon, J, et al. 1972. Sciences et technique du vin. Tome 1. Ed. Dunod, Paris. p671. 1972.
- Ribereau-Gayon. 1968. Les composés phénoliques des végétaux, Dunod, Paris, p254. 1968.

- Rice-Evans, C.A, N.J, Miller et G, Paganga. 1996. Structure-antioxydant Activity relationships of flavonoides and phenolic acids. 1996.
- Ryndak-Swiercz, A. 2010. Ontogenèse, anatomie, histologie et physiologie de la thyroïde. In : Jean LW. Les maladies de la thyroïde. Elsevier-Masson ; 2010 : 3- 13. 2010.

-S-

- Sauer, E. 2014. Liver delta aminolevulinate deshydratase activity is inhibited by neonicotinoids and restored by antioxidants agents Int J Environ Res Public Health 11(11): 11676-11690. 2014.
- SCHELL, ML et Gallo MV, Decaprio AP, Hubicki L, Denham M, Raven. 2004. Thyroid function in relation to burden of PCBs, p,p' - DDE, HCB, mirex and lead among Akwesasne Mohawk. 2004.
- Shivanoor, SM, David M. 2014. Protective role of turmeric against deltamethrin induced renal oxidative damage in rats. Biomedicine & Preventive Nutrition 4: 543-553. 2014.
- Sies, H. 1991. . Role of reactive oxygen species in biological processes. Klin. Wochenschr.. 69(21-23): 965-968. 1991.
- Svoboda, K.P et J.B., Hampson. 1999. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidants, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Plant biology department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, 1999.

-T-

- Testud, F et JP, Grillet. 2007. Insecticides organophosphorés, carbamates, pyréthrinoïdes de synthèse et divers. EMC. Toxicologie-Pathologie Professionnelle. 16-059-C-15. 2007.
- Thoby, C. 2009. La mélisse officinale, *Melissa officinalis* L. Thèse d'exercice : Pharmacie, Université de Nantes.(18) 136 p. 2009.
- Timbrell, JA, R, Draper et CJ, Waterfield. 1994. Biomarkers in toxicology: new uses for some old molecules? Toxicology and Ecotoxicology News 1(1): 4-14. 1994.
- Tomlin, C.D.S. 2006. The Pesticide Manual. 13th edition. British Crop Protection Council,. 2006.
- Toumi, H. 2013. Ecotoxicité de la deltaméthrine et du malathion sur différentes souches de *Daphnia magna*. s.l. : These docttrat. 208p, 2013.

- Tramalloni, J et Monopeyssen, H. 2005. “ Échographie de la thyroïde”. Collection D'imagerie médicale-formation.17. 2005.
- Tron, I et Piquet, O and Cohuet, S. 2001. Effets chroniques des pesticides sur la sante : Etat actuel des connaissances. Bretagne : Observatoire Régional de Santé (ORS) de. 2001.

-U-

- Utip, B, et al. 2013. (2013) Effect of Deltamethrin and Ridomil on Sperm Parameters and Reproductive Hormones of Male Rats. Toxicol Environ Health 9-14. 2013.

-V-

- Vigourou, VA. 2006. Niveau d'imprégnation de la population générale aux pesticides : sélection des. 2006.
- Vigreux, C, P, D. 2009. “Dysendocrinies thyroïdiennes et pancréatiques Auto-immunes du chien et du chat : Intérêts en pathologie comparée – Mise au point bibliographique.” Thèse de médecine. Université de Paul Sabatier de Toulouse. 227. 2009.
- Vincent, AM, et al. 2004. (“Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy.” Endocrine reviews, 25(4), 612-628. 2004.
- Viviana, VL, et Angélica TB, Lina GM, Alejandro M, Marisol RL. 2015. Acute restraint stress and corticosterone transiently disrupts novelty preference in an object recognition task. Behav Brain Res 291 : 60-66. 2015.

-W-

- Wagner, MS, et Wajner SM, Maia AL. 2008. The role of thyroid hormone in testicular development and function. J Endocrinol.; 199: 351–365. 2008.
- Waring, WS., Convery A., Mishra V., Shenkin A., Web DJ maxwell SR. 2003. Uric acide reduces exercise-induced oxidative stress in healthy adults . Clin.Sci 105(4) 425-430. 2003.
- Weckbercker G et Cory JG. 1988. Ribonucleotide reductase activity and growth of Glutathione depended mouse Leukemia L1210 cells in vitro. Cancer Letter 40 : 257-264 -. 1988.
- Wichtl, M et Anton, R. 1999. Plantes thérapeutiques : traditions, pratiques officinales, science et thérapeutique. Paris : Tec&Doc,636p. 1999.

-Y-

- Yarsan, et al. 1999. Effects of aldicarb and malathion on lipid peroxidation. Bulletin of Environment Contamination and Toxicology. 63 : 575-581. 1999.
- Yoshimura, T. 2013. Thyroid hormone and seasonal regulation of reproduction. Front Neuroendocrinol. 34 : 157–166. 2013.

-Z-

- Zaror, C et Segura C, Mansilla H, Mondaca MA, Gonzalez P. 2010. Kinetic study of Imidacloprid removal by advanced oxidation based on photo-fenton process. Environ Tech. 31 :1411–1416. 2010.

Annexe

Annexe 01

1. Matériels et appareils utilisée

1.1. Petits matériels

- ✓ Pipettes graduées ; Micropipettes (10µl à 5000µl).
- ✓ Pissette ; Spatule. Verre de montre.
- ✓ Tubes à essai ; Becher.
- ✓ Papier d'aluminium ; Erlenmeyers
- ✓ Entonnoirs ; Eprouvettes graduées
- ✓ Papier Wattman N° 01 ; Portoirs.
- ✓ Tubes secs en verre et en plastique ; Tubes Eppendorf
- ✓ Centrifugeuses sigma., Cuves pour la spectrophotométrie
- ✓ (En plastique et en quartz).

1.2. Grand matériels

- ✓ Réfrigérateur.
- ✓ Bain marie (MEMMERT).
- ✓ Agitateur Vortex (THERMOS).
- ✓ Spectrophotomètre (UV mini 1240)
- ✓ SHIMADZU).
- ✓ Centrifugeuse (SELECTA).
- ✓ Etuve (HERAEUS).
- ✓ Spectrophotomètre
- ✓ Balance analytique
- ✓ Balance de précision (KERN),
- ✓ Agitateur magnétique (WITEG).

1.3. Matériels de dissection

Le matériel nécessaire utilisée dans la dissection et le sacrifice des rats



- ✓ Boites épingles
- ✓ Scalpel
- ✓ Gros ciseau
- ✓ Ciseau fin
- ✓ Pincés
- ✓ Kiteur
- ✓ Papier aluminium
- ✓ Des tubes secs
- ✓ Des portes mangés
- ✓ Aiguilles lancéolées

2. Produits chimiques

- ✓ TCA (Trichloro acétique).
- ✓ Acide sulfurique.
- ✓ Acide orthophosphorique (à 85%).
- ✓ EDTA (Acide éthylène diamine tétracétique).
- ✓ DTNB (l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobénoïque).
- ✓ Sodium phosphate dibasique.
- ✓ ASS (Acide sulfosalicylique).
- ✓ Sodium phosphate monobasique.
- ✓ Acide sulfurique.
- ✓ BSA (Albumine sérum de boeuf).
- ✓ Méthanol absolu.
- ✓ Eau distillée.
- ✓ NaOH
- ✓ H₂O₂
- ✓ Glucose.

Annexe 02

Tableau. Variation de poids corporel (PC) (g) chez les rats témoins et traités après 3 semaines du traitement

Lot expérimentaux				
	T	HE	D	HE+D
Poids initial (g)	211±8,16	193,5±37,81	187,5±34,20	190,5±25,64
Poids final (g)	233,5±8,58	199±35,67	205,25±40,35	221,25±26,62

Tableau. Variation des paramètres de stress oxydatif, Glutathion (GSH), Malondialdhyde (MDA), l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx), glutathion S transférase (GST) et la protéine dans la glande thyroïde chez les rats témoins et traités par deltaméthrine (D), l'huile essentielle de *mélissa officinalis* (HE) et la mixture de Deltaméthrine/l'huile de *Mélissa officinalis* (D+HE) après 3 semaines de traitement

Lot expérimentaux				
Paramètres	T	HE	D	HE+D
MDA (nmol/mg)	10,71±5,20	8,95±3,03	21,63±5,07	13,89±4,73
GPx (nmol/min/mg)	0,54±0,04	0,65±0,03	0,12±0,04	0,47±0,02
GSH (nmol/mg)	3,73±1,36	9,99±2,86	18,55±3,00	13,12±2,92
GST (nmol/min/mg)	0,001±0,006	0,002±0,0009	0,006±0,0001	0,002±0,007
Protéine(mg/mg)	0,28±0,19	0,40±0,19	0,85±0,12	0,39±0,09

Annexe 03

1. Préparation des solutions

1.1. Préparation des solutions pour le dosage de stress oxydant

1.1.1. Solution de dosage de GSH

Tableau : les solutions pour le dosage de GSH

Dosage de GSH				
Solution	EDTA (0,02 M) Tris (0.4 M) PH=9,6	EDTA (0,02M)	DTNB (0,01 M)	Acide Salicylique (0.25 %)
Protocoles	Dissoudre 1,87g EDTA et 12.11g Tris dans 250 ml d'eau distillé Puis ajuster ph a 9,6	Dissoudre 5,61g EDTA dans 750 ml d'eau distillé	Dissoudre 200 mg DTNB dans 50 ml de méthanol	Dissoudre 250 mg d'acide salicylique dans 100 ml d'eau distillé

1.1.2. Solution de dosage de GST

Tableau : solutions et protocoles de dosage de GST

Dosage de GST		
Solutions	CDNB (1,0Mm)	Solution GSH (0,1 M)
Protocoles	Dissoudre 202.55 mg CDNB dans 50 µl éthanol absolu (%)	Dissoudre 153,65 mg de GSH dans 50 µl d'eau distillé

1.1.3. Solutions de dosage de GPx

Tableau : Les solutions de dosage de GPx

Dosage de GPx			
Protocole	GSH (Glutathion) (0.1 mM)	TCA (temps de céphaline Activée) (01 g)	DTNB (5,5'-Dithiobis (acide 2- nitrobenzoïque) (1,0 mM)
	Prendre 3,073 mg de GSH dans 100 ml de l'eau distillé	Dissoudre 01 g de TCA dans 100 ml d'eau distillé	Dissoudre 100 mg de DNB dans 250 ml de méthanol

1.1.4. Solution de dosage de protéine

Tableau : Les Solution de dosage de protéine.

Dosage de protéine		
Solutions	BSA (mg/ml)	BBC
Protocoles	Dissoudre 5 mg de BSA DANS 5 ml d'eau distillé	Dissoudre 100 mg de BBC dans 150 ml éthanol (95 %) puis agiter pendant 2 heures. Ajouter 100 ml d'acide Orthophosphorique (85%) et 850 ml d'eau distillé pour obtenir 1L de solution puis fait la conservation à 4°C.

1.1.5. Solution de dosage de MDA

Tableau : Les solutions de dosage de MDA

Dosage de MDA				
Solution	TBS (Tris, Nacl)	Hcl (0,6 M)	TCA-BHT	Tris-TBA
Protocoles	Dissoudre 8,775 g de Nacl dans 1L d'eau distillé, puis 6,06 g Tris et compléter le volume a 1 L par solution de Nacl et après ajuster le pH à 7,4	Prélever 5,156 ml d'Hcl et compléter le volume à 100 ml par l'eau distillé puis agiter la solution	Ajouter 20 g TCA dans 100 ml d'eau distillé pour obtenir TCA 20 % Dans un autre flacon prendre 01g de BHT et ajouter la solution TCA 20% puis agiter La solution	Ajouter 0,3 g dans 100 ml de l'eau distillé Dans un autre flacon prendre 1,73 g de TBA et ajouter la solution Tris (26 Mm) puis agiter la solution.