



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

Université de Larbi Tébessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Biologie Appliquée



MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option : toxicologie

Effet correcteur de l'extrait *citrullus colocynthis* sur la pneumotoxicité induite par la deltamethrine chez les rats wistar

Présenté par :

M^{elle}. DJEDIDI Chaima & M^{elle}. BIA Safa

Devant le jury :

Mm. HAME Mehdi	MAA	Université de Tébessa	Présidente
M. SOLTANI Nadjmeeddine	MAA	Université de Tébessa	Examineur
M. GASMI Salim	MCB	Université de Tébessa	Rapporteur
Mm. BOUADILA Soulef	MAA	Université de Tébessa	Co-Rapporteur

Date de soutenance : 17/06/2020



Remerciement

*En préambule à ce mémoire nous remerciant **ALLAH**, le Clément qui manifeste sa clémence, qui nous a donné la force, le courage et la patience durant ces longues années d'étude.*

*Nos doive tous les respects à notre encadreur le **Mr. GASMI Salim**, pour son soutien moral et matériel à la réalisation de ce travail et aussi on très remerciant le Co-encadreur **Mme. BOUADILA Soulef**, pour son conseil et directions.*

*Un très grand merci a **Mme. Hamel Mehdi**, maitre de conférences à l'université de Tébessa, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury. Noustenons également à remercions **M. SOLTANI Nadjmeeddine**, D'avoir accepté d'examiner ce mémoire et de faire partie du jury de cette soutenance.*

*Nous remercie également **Dr.HAMIDA Othman** "Docteur spécialiste des sciences de l'anatomie et histologie" qui nous a aidés de teste histologie de poumon et toute l'équipe du laboratoire de L'anatomie pathologique **Fatima** et **Soumia** et surtout **El-arousi Moussaoui** de l'hôpital El-chahid Omar Al-Gilani de El-oued*

Nos remerciements vont tout d'abord au corps professoral et administratif de la Faculté de science de la nature et de la vie pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

Nous vous remercions tous

Résumé

Les pesticides sont des produits chimiques utilisés pour combattre les êtres nuisibles de l'agriculture il résulte de leur utilisation de nombreux dégâts atteignant aussi l'homme que les animaux se traduisant par des maladies touchant surtout les systèmes respiratoires et digestif. Par cette étude nous avons procédé à l'évaluation de pneumotoxicité cause par un insecticide du type « pyréthrinoides » soit le deltaméthrine .Aussi nous avons évalué l'effet préventif et curatif de les feuilles et les fruits de la plante médicinale « *Citrullus colocynthis* » contre cette toxicité. Nous avons procédé à l'application expérimentale sur des rats du type « wister » comme modèle animal d'expérimentation.

Plusieurs expériences étaient effectuées sur l'activité des enzymes et les indicateurs vitaux. Notre étude biochimique a dégagé une diminution dans la concentration de la protéine accompagnée d'une diminution dans la moyenne de développement du corps. Puis, notre étude à montre que le deltaméthrine a un effet oxydatif, se traduisant par une diminution du niveau du glutathion synthétique (GSH) et de l'activité enzymale du glutathion peroxydase (GPx) En plus d'une augmentation du niveau du malondialdéhyde (MDA) et l'activité enzymale du glutathion -s-transférase (GST).

L'étude histologique effectuée sur un fragment de poumon de rats traités à l'aide de ce pesticide à montré des changements dans la structure histologique des poumons traduits par : une congestion vasculaire, infiltration des cellules inflammatoires, épaississement des parois des vaisseaux sanguins, comme nous avons observé des hémorragies intra alvéolaires et une hyperplasie du revêtement alvéolaire.

D'autre part, nous avons confirmé l'effet préventif de la plante « *Citrullus colocynthis* » après traitement à l'aide de ce pesticide qui possède une activité anti -oxydants qui peut diminuer l'intensité du stress oxydatif résultant du deltaméthrine et son efficacité dans le traitement du tissu pulmonaire affecté par ce pesticide et sa remisé en son état naturel.

Mots clés : Pneumotoxicité, Pyréthrinoides, Deltaméthrine, *Citrullus Colocynthis*, Stress oxydatif.

ملخص

المبيدات عبارة عن مواد كيميائية تستخدم لمكافحة الحشرات الضارة للزراعة. حيث يترتب على استخدامها العديد من الأضرار التي تطال الإنسان والحيوان على حد سواء، فتتسبب في الكثير من الأمراض ولاسيما تلك المتعلقة بالجهاز التنفسي والهضمي.

فمن خلال هذه الدراسة تطرقنا إلى تقييم السمية الرئوية لمبيد حشري من صنف البيريثينويدات ألا وهو: الدلتا مثرين. كما قمنا بتقييم التأثير الوقائي والعلاجي لثمار واوراق نبتة الحنظل ضد هذه السمية؛ حيث طبقنا هذه التجربة على جردان من صنف ويستر كنموذج حيواني للتجريب.

وعلى هذا السياق، قمنا بإجراء عدة اختبارات حول نشاط الإنزيمات والمؤشرات الحيوية إضافة إلى الدراسة النسيجية.

بعد نهاية التجربة كشفت دراستنا البيوكيميائية عن انخفاض في نسبة تركيز البروتين، مصحوبا بتناقص في معدل نمو الجسم. إضافة إلى ذلك، أظهرت دراستنا أن للدلتا مثرين تأثير مولد للأكسدة والمتمثل في انخفاض في مستوى الجلوتاثيون النسيجي (GSH) والنشاط الأنزيمي للجلوتاثيون بيروكسيداز (GPX) بالإضافة إلى زيادة مستوى المالونديالدهيد (MDA) والنشاط الأنزيمي للجلوتاثيون-S- ترونسفيراز (GST).

وقد بينت الدراسة النسيجية التي قمنا بها على جزء من رئة الفئران المعالجة بهذا المبيد إلى: تغيرات في التركيب النسيجي للرئتين، التي تتميز باحتقان الأوعية الدموية، وإرتشاح الخلايا الالتهابية، وسماكة جدران الأوعية الدموية، كما لاحظنا وجود نزيف داخل الحويصلات وأيضاً تضخم داخل بطانة الحويصلات الهوائية.

ومن جهة أخرى تم التأكد من الآثار الوقائية لنبتة الحنظل بعد المعالجة بهذا المبيد الحشري، التي تمتلك نشاط مضاد للأكسدة، والتي يمكنها أن تقلل من حدة الإجهاد التأكسدي الناجم عن الدلتا مثرين، وأيضاً فعاليتها في علاج النسيج الرئوي المتضرر من قبل هذا المبيد وإعادته إلى تركيبه الطبيعي.

الكلمات المفتاحية: السمية الرئوية، البيريثينويدات، الدلتا مثرين، الإجهاد التأكسدي، نبتة الحنظل

Abstract

The Pesticides are chemicals used to fight harmful organisms in agriculture. They result from their use of many damage, both human and animal, resulting in diseases mainly affecting the respiratory and digestive systems.

In this study, we evaluated the pneumotoxicity caused by an insecticide of the "pyrethroid" type, namely deltamethrine. We also evaluated the preventive and curative effect of the leaves and fruits the medicinal plant "*citrullus colocynthis*" against this toxicity.

We carried out the experimental application on rats of the "wister" type as an animal model of experimentation. Several experiments were carried out on the activity of enzymes and vital indicators. Our biochemical study revealed a decrease in the concentration of protein accompanied by a decrease in the means of development of the body. Then, our study shows that deltamethrine has an oxidative effect, resulting in a decrease in the level of synthetic glutathione (GSH) and the enzyme activity of glutathione pyroxydase (GPx)

In addition to an increase in the level of malondialdehyde (MDA) and the enzyme activity of glutathione –s-transferase (GST).

The histological study carried out on a lung lining of rats treated with this pesticide showed changes in the histological structure of the lungs resulting in: vascular congestion, infiltration of inflammatory cells, thickening of the walls of blood vessels, as we we observed intra-alveolar hemorrhages and hyperplasia of the alveolar covering.

On the other hand, we confirmed the preventive effect of the "*citrullus colocynthis*" plant after treatment with this pesticide, which has an anti-oxidant activity, which can decrease the intensity of the oxidative stress resulting from deltamethrine and its effectiveness. In the treatment of lung, tissue effected by this pesticide and returned to its natural state.

Key words: pneumotoxicity, pyrethroids, deltamethrine, *citrullus colocynthis*, oxidative stress.

Liste des tableaux

N°	Tableau	Page
01	classification des pesticides selon la cible visée	6
02	Principales familles d'insecticides, de fongicides et d'herbicides	8

Liste des figures

N°	Figure	Page
01	formules chimique développées (a) d'un pyréthrianoïde de type(I), la perméthrine et (b) d'un pyréthrianoïde de type (II), la cyperméthrine	10
02	L'appareil respiratoire	12
03	Anatomie sommaire du système respiratoire	13
04	Représentation schématique des alvéoles (A) et de la barrière alvéolo-capillaire (B)	14
05	stress oxydant : une conséquence du déséquilibre de la balance oxydante	18
06	Réactions d'élimination des radicaux lipidiques par les vitamines E et C	21
07	Le plant <i>Citrullus colocynthis</i>	25
08	Montage de l'extraction par cleverger	26
09	Deltaméthrine(Décis®)	27
10	Schéma récapitulatif du protocole expérimental	27
11	Rat male de la souche Wistar	28
12	Conditions d'élevage des rats	29
13	Prise du poids des rats	29
14	Rats sacrifiés	31
15	Poumons prélevées après sacrifice	31
16	cassette en plastique	34
17	Automate pour déshydratation	35
18	Appareil à inclusion	35
19	Microtome	36

20	Evolution du poids corporel (PC) chez les différents groupes traités	40
21	Evolution du gain de poids corporel (GP) chez les rats témoins et traités	41
22	Evolution du poids relatif du poumon (PRp) chez les rats traités	42
23	Variation du taux de GSH dans le poumon après 10 jours de traitement par le pesticide et l'extrait de plant	43
24	Variation du taux de GST dans le poumon après 10 jours de traitement par le pesticide et l'extrait de plant	44
25	Variation du taux de GPX dans le poumon après 10 jours de traitement par le pesticide et l'extrait de plant	45
26	Variation du taux de MDA dans le poumon après 10 jours de traitement par le pesticide et l'extrait	46
27	Variation du taux de Protéine dans le poumon après 10 jours de traitement par le pesticide et l'extrait de plant	47
28	Variation du taux de Protéine dans le poumon après 10 jours de traitement par le pesticide et l'extrait de plant	48
A	Annexe : Four	71
B	Annexe : centrifugeuse	71
C	Annexe : Balance	72
D	Annexe : Spectrophotomètre	72
E	Annexe : Agitateur	73
F	Annexe : Les lames histologie	73
G	Annexe : Les cassettes	74

Liste des abréviations

Abréviation	Désignation
%	Pourcentage
°C	Degré Celsius
Mg	Microgramme
Mg	Milligramme
G	Gramme
Kg	Kilogramme
MI	Microlitre
ml	Millilitre
Nm	Nanomètre
Mm	Milimole
M	Mol
DM	Deltaméthrine
CC	<i>Citrullus colocynthis</i>
ADN	Acide désoxyribonucléique
CAT	Catalase
GPX	Glutathion peroxydase
GSH	Glutathion réduit
GST	Glutathion-S-transférase
MDA	Acide Malon-dialdéhyde
SOD	Super-oxyde-dusmitase
H2O2	Peroxyde d'hydrogène
GSSG	Glutathion oxydée
OH°	Radical hydroxyle
ROOH	Hydroperoxyde
ROH	Alcool
ROS	Reactive oxygen species
RL	Radiquaux libre
ERO	Espèce réactives de l'oxygène

T	Témoin
O ₂ ^{°-}	Radical superoxyde (anion superoxyde)
O ₂	Oxygène
H ₂ O	Eaux
DDT	Dichloro-diphényle-trichloro-éthane
Ca	Calcium
Fe	Fer
K	Potassium
Mg	Magnésium
Na	Sodium
CaSO ₄	Calcium sulfate
Cu(OH) ₂	Dihydroxyde de cuivre
CO ₂	Dioxyde de carbone
NH ₄	Ammonium
NaCl	Sodium chloride
Na ₂ HPO ₄	Sodium hydrogène phosphate
NaOH	Hydroxyde de sodium
POPs	Polluants organiques persistants
PCBs	Polychlorobiphényles
FAO	Organisation Mondiale pour l'Alimentation et l'Agriculture
HAPs	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
HCB	Hexa chlorobenzène
CDNP	1-chloro, 2,4-dinitrobenzène
DTNB	Acide 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoïque) ou réactif d'Ellman
BSA	Bovine Sérum Albumine
BHT	Butyl hydroxy toluene
HCH	Hexachlorocyclohexane
HCL	Hydrogen chloride
TBA	L'acide Thio barbiturique
TCA	Trichloroacétique
Min	Minute
H	Heure
J	Jour

Sommaire

Remerciement

Résumé

ملخص

Abstract

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Sommaire

Introduction Générale 1

Synthèse Bibliographique

CHAPITRE I : Pesticides

1. Généralités sur les pesticides 5

1.1. Définition 5

1.2. Classification des pesticides 6

1.2.1. Selon la nature de la cible visée 6

1.2.2. Selon leur structure chimique 7

1.2.3. Selon leur persistance dans l'environnement 8

1.3. Devenir des pesticides dans l'environnement 9

1.4. Modes d'expositions aux pesticides 9

2. Les pyréthriinoïdes 9

2.1. Généralités 9

2.2. Classification 10

Chapitre II : pneumo toxicité

1. Généralités sur les systèmes respiratoires 12

1.1. Histologie du poumon 12

1.2. Physiologie du poumon 13

1.3. Fonctionnement du système respiratoire 15

2. Pneumo toxicité 16

2.1. Définition de Pneumo toxicité 16

Chapitre III : stress oxydatif

1. Généralités sur le stress oxydant	18
2. Effets des radicaux libres sur l'organisme	19
2.1. Peroxydation lipidique	19
2.2. Oxydation des protéines	19
2.3. Oxydation de l'ADN	19
3. Antioxydants	19
3.1. Système antioxydant enzymatique	19
3.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)	19
3.1.2. Glutathion peroxydase (GPx)	20
3.1.3. Catalase (CAT)	20
3.2. Système antioxydant non enzymatique	20
3.2.1. Glutathion (GSH)	20
3.2.2. Vitamines	20
3.2.3. Oligoéléments	21
3.2.4. Ubiquinones et cytochromeC	21
3.2.5. Polyphénols	22

Partie Expérimental

I. Matériel et méthodes	
1.1. Matériel	25
1.1.1. Matériel végétal	25
1.1.2. Matériel chimique	26
1.1.3. Les animaux de laboratoire	27
1.2. Méthodologie	28
1.2.1. protocole expérimental	28
1.2.2. Entretien des animaux	29
1.2.3. Choix des doses	30
1.2.4. Répartition et traitement des rats	30
1.2.5. Evaluation des effets de pesticide et de <i>citrullus colocynthis</i>	30
1.2.5.1. Mesure de poids	30
1.2.5.2. Etude de l'intégrité cellulaire et moléculaire	30
1.2.5.3. Traitement statistique	37

2. Résultats

2.1. Effets des pesticides et de la <i>citrullus colocynthis</i> sur les paramètres de la croissance globale	39
2.1.1. Poids corporel	39
2.1.2. Gain de poids (GP)	41
2.1.3. Poids relatif du poumon (PRp)	42
2.2. Effets des pesticides et de la <i>citrillus colocynthis</i> sur les paramètres biochimiques et statut redox	43
2.3. Effets des pesticides et de la <i>citrullus colocynthis</i> sur les poumons	48
2.3.1. Coupe histologique	48
3. Discussion	
3.1. Effets de deltaméthrine et <i>citrullus colocynthis</i> sur les paramètres de la croissance	51
3.2. Effets de deltaméthrine et <i>citrullus colocynthis</i> sur le statut redox	52
3.3. Effets de Deltaméthrine et <i>Citrullus colocynthis</i> sur les protéines	54
3.4. Effets de traitement sur l'histologique du tissu pulmonaire	54
Conclusion et perspectives	57
Références bibliographiques	60
Annexes	71

Introduction

L'homme est l'un des êtres vivants composant la multitude des organismes de la biosphère. Il demeure exposé en permanence à de nombreuses agressions de natures diverses, en particulier les substances toxiques de son environnement tels que les pesticides. Ces derniers sont les polluants les plus dangereux de l'environnement en raison de leur mobilité et leur capacité à s'accumuler dans l'environnement et de leurs effets néfastes à long terme qui en découlent sur les organismes vivants en général et la santé humaine en particulier (**Marek et al, 2013**).

Leur utilisation généralisée en milieu agricole, la santé publique, le commerce et les ménages à travers le monde est une indication de l'importance de ces composés (**Alavanja et al, 2004**). En plus de leur objectif principal, les pesticides peuvent également affecter les êtres humains et les animaux dans le voisinage de la zone pulvérisée par l'insecticide (**Al-Attar et Al-Taisan., 2010**). Ils sont conçus pour interférer avec les espèces vivantes et sont nécessairement caractérisés par des niveaux variables de toxicité (**Corsini et al, 2007**). En effet, la gravité de l'intoxication dépend de la toxicité du produit en cause, du mode de pénétration, de la dose absorbée, de la physiologie et de l'âge du sujet (**Miguel-Bouzas et al, 2012**).

L'utilisation de substances toxiques ayant un pouvoir insecticide est très ancienne. Il y a 2 000 ans, les Chinois utilisaient déjà de la poudre de fleurs séchées, les pyrèthres. En 1690, La Quintinie découvre les qualités antiparasitaires du tabac. Puis à la fin du XVIII^e siècle et début du XIX^e siècle, les arsenicaux, les fluorures, le soufre, sont à leur tour employés. C'est ensuite, avec le développement de la chimie organique, que les insecticides de synthèse sont mis au point, l'exemple le plus connu étant celui de la découverte du DDT par MULLER et WIESMAN en 1939. A partir de ce moment-là, de nombreux autres composés insecticides sont découverts que l'on regroupe dans les catégories des organo-chlorés, organo-phosphorés, carbamates ... etc.

L'apparition de souches résistantes à ces produits, notamment aux composés organo-phosphorés, ainsi que la connaissance de plus en plus approfondie de l'action toxique des constituants naturels des pyrèthres vont alors déterminer le développement de la grande famille des pyréthrinoides de synthèse (**L. richou-bac et Annick venant, 1985**). L'un de ces pyréthrinoides est la deltaméthrine (DM), est un insecticide non systémique appartenant à la famille des pyréthrinoides de synthèse à action rapide par contact et ingestion. Cette molécule est considérée comme un inhibiteur d'estérases, ainsi que du canal sodium au niveau des membranes des neurones chez les insectes. La dose active de la deltaméthrine(DM) en traitement agricole n'est que de 5 à 15 g/ha-1 (**FAO, 2007**).

La deltaméthrine (DM) est considérée comme la plus toxique parmi les autres pyréthrinoides, car elle n'est ni pas complètement dégradé ni rapidement métabolisée et de ce fait s'accumule dans les lipides (Sayeed et al, 2003).

L'objectif général de notre travail est d'évaluer la pneumotoxicité de la deltaméthrine et l'effet correcteur de l'extrait de la plante étudiée *Citrullus Colocynthis L.* Ces travaux sont décrits dans le présent manuscrit qui est composé de deux parties ; *Partie bibliographique*, comprend trois chapitres : le premier sur les pesticides, le deuxième sur la pneumotoxicité et le troisième chapitre donne un rappel sur le stress oxydatif. Puis dans la *Partie expérimentale*, nous nous intéressons aux effets pneumotoxicité de deltaméthrine par le dosage de quelques paramètres biochimiques (protéines), de quelques paramètres de stress oxydatif (GSH, GST, GPx, MDA) et par une étude histologique de poumon chez les rats témoins et les traités, et l'évaluation de l'effet préventif de l'extrait de la *citrullus colocynthis* contre les effets délétères de ce pesticide.

Synthese

Synthese

Bibliographie

Bibliographie

Chapitre I :

Pesticides

1. Généralités

Les pesticides ont été appliqués de manière préventive afin de repousser ou d'atténuer les effets des organismes nuisibles. Bien que la plupart d'entre eux aient été interdits dans de nombreux pays en raison d'effets mutagènes et cancérigènes, les pesticides et leur métabolites sont toujours présents dans l'environnement, en particulier dans les sols et les sédiments, en raison de leur persistance et leur propriétés lipophiles. La quantité de pesticides en contact direct avec les microorganismes ciblés est extrêmement faible par rapport à la quantité appliquée. Des effets secondaires indésirables peuvent alors se produire sur certaines espèces, sur les communautés ou sur l'écosystème (**Ayad-mokhtari, 2012**).

1.1. Définition

Le terme pesticide est un mot latin. Il contient la racine anglaise « pest », qui signifie animal, insecte ou plante nuisible et le suffixe « cide » qui signifie tuer. Il désigne donc toutes les substances chimiques naturelles ou de synthèse destinées à prévenir, contrôler, attirer, repousser, détruire ou combattre les différentes sortes d'agents nuisibles y compris tous les vecteurs de maladies humaines et animales. Ils regroupent ainsi un grand nombre de composés aux usages variés (insecticides, herbicides, fongicides,...etc.) et de familles chimiques très différentes (organochlorés, organophosphorés, carbamates, pyréthrinoïdes,...etc.). Leur utilisation massive et incorrecte fait encourir des risques écologiques et sanitaires. Leurs résidus qui s'accumulent dans les tissus végétaux ou animaux, dans les eaux souterraines et de surface menacent la santé des humains et des animaux conduisant à des effets toxicologiques différents (**Mosbah, 2008**).

La FAO « Food and Agriculture Organization » définit ainsi les pesticides « toute substance ou association de substances qui est destinée à repousser, détruire ou combattre les ravageurs, y compris les vecteurs de maladies humaines ou animales, les espèces indésirables de plantes ou d'animaux causant des dommages ou se montrant autrement nuisibles durant la production, la transformation, le stockage, le transport ou la commercialisation des denrées alimentaires, des produits agricoles, du bois et des produits ligneux, des aliments pour animaux, ou qui peut être administrée aux animaux pour combattre les insectes, les arachnides et autres endo ou ecto-parasites (**FAO, 1986**).

1.2. Classification des pesticides

L'hétérogénéité de ce vaste ensemble de produits rend difficile toute classification. Certains auteurs séparent les pesticides minéraux de pesticides organiques (organochlorés et organophosphorés), d'autres préfèrent classer les produits selon la cible visée (insecticides, herbicides, fongicides .etc.), le domaine d'utilisation ou leur toxicité. Il y a alors plusieurs possibilités de classification (**Merhi, 2008**).

1.2.1. Classification selon la nature de la cible visée

Plusieurs catégories de pesticides selon les organismes vivants visés, dont les Principales sont consignées dans le tableau suivant

Tableau 01 : classification des pesticides selon le cible visée (**Inserm, 2013**).

Pesticide	Utilisation	Exemple
Les insecticides	Utilisés contre les insectes nuisibles.	Dichlorodiphényltrichloroéthane , déltamethrine.
Les fongicides	Utilisés contre les champignons phytopathogènes ou vecteurs de mycoses animales ou humaines.	Moncozèbe, hexaconazol, Chlorothalonil
Les herbicides	Qui détruisent les plantes adventices des cultures et, de façon plus générale, toute végétation jugée indésirable.	2-4D, glyphosate
Les acaricides	qui détruisent les acariens.	Abamectine, nicotine
Les nématicides	employés contre les nématodes phytoparasites	Bromomethane, chloropicrine
Les molluscicides	ou hélicides qui détruisent les gastéropodes.	Methiocarbe, mercaptodiméthur
Les rodenticides	qui tuent les rongeurs comme les rats	Warfarine, phosphure de zinc
Les avicides	destinés à éliminer les oiseaux ravageurs.	Strychnine

1.2.2. Selon leur structure chimique

Le deuxième système de classification tient compte de la nature chimique de la substance active majoritaire qui compose les produits phytosanitaires. Les principaux groupes chimiques sont : les pesticides inorganiques, les pesticides organo-métalliques, et les pesticides organiques.

1.2.2.1. Pesticides inorganiques

Ils sont peu nombreux mais certains sont utilisés en très grande quantité comme le ou le soufre cuivre. Ce sont des pesticides très anciens dont l'emploi est apparu bien avant la chimie organique de synthèse. De cette époque ne subsistent aujourd'hui aucun insecticide, 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 ($[\text{Cu}(\text{OH})_2]_x, \text{CaSO}_4$) (Fillatre, 2011).

1.2.2.2. Pesticides organo-métalliques

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).

1.2.2.3. Pesticides organiques

Ils sont très nombreux et appartiennent à diverses familles chimiques (Tomlin, 2006). Il existe actuellement plus de 80 familles ou classes chimiques dont les plus connues sont : les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyrèthrinoïdes, les triazines, les imidazoles et d'autres groupes (tels que le dérivé dipiridiniques, organe mercuriale, organocinacades, fenoxiacétiques, pyrèthrines et les dérivés triaziniques) (Bazzi, 2010). Les principales familles des insecticides, herbicides et des fongicides sont groupées dans le tableau 02.

Tableau 02 : Principales familles d'insecticides, de fongicides et d'herbicides (Elbakouri, 2006).

Insecticides	Herbicides	Fongicides
Minéraux		
Soufre Composés fluorés Dérivés de mercure Dérivés de Sélénium Composés à base de silice Quartz, magnésie Huiles de pétrole	Sels de NH ₄ , de Ca, de Fe de Mg, K, Na Sous forme de sulfates, de nitrates Chlorures, chlorates....	Sels de cuivre A base de soufre Composés arsenicaux Huiles minérales
Organiques		
Organochlorés Organophosphorés Carbamates	Phytohormones ; Dérivés de l'urée Carbamates ; Triazines et diazines ; Dérivés de pyrimidines ; Dérivés des dicarbosimides ; Dérivés de l'oxyquinoleine ; Dérivés des thiadiazines et thiadiazoles	Carbamates et dithiocarbamates Dérives du benzène Dérivés des quinones Amides Benzonitriles Toluidines Organophosphorés
Divers		
Pyréthrinoides de Synthèse Produits bactériens Répulsifs	Dicamba Pichlorame Paraquot	Carboxines Chloropicrine Doguanide Formol

1.2.3. Selon leur persistance dans l'environnement

Les pesticides sont classés en deux types principaux :

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

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

1.3. Devenir des pesticides dans l'environnement

Dans la volonté de protéger les cultures contre des parasites ou le développement d'adventices indésirables, des pesticides sont appliqués sur les parcelles agricoles. L'entrée des pesticides dans l'environnement se fait généralement lors de l'application en plein champ. Les modalités de leur utilisation lors de l'application vont conditionner la manière dont la matière active va se dissiper dans l'environnement. En effet, si le pesticide est apporté par incorporation dans le sol, pulvérisation ou sous forme d'enrobage de semence, sa propagation sera différente.

Par ailleurs son comportement est également influencé par la formulation utilisée (**Dubey et al, 2009, Shirley et al, 2001, Chevillard et al, 2012, Katagi, 2008, Blanco et al, 2009**).

Lors de l'application d'un pesticide en condition de pleins champs, des pertes peuvent se produire. En effet au cours d'une pulvérisation, une partie du traitement est détournée de sa cible par le vent ou l'évaporation et constitue les pertes appelées « dérives » (**Gil & Sinfort, 2005, Bahrouni, 2010**).

Une fois appliqué, le pesticide va être soumis à un ensemble de mécanismes qui vont conditionner sa dissipation dans les différents compartiments de l'environnement de la parcelle jusqu'au cours d'eau. Les phénomènes de rétention et transformation vont fortement affecter le devenir des pesticides dans les sols.

1.4. Modes d'expositions aux pesticides

Les pesticides sont utilisés, non seulement dans l'agriculture, mais aussi par divers autres acteurs (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 (**Djeffal, 2013**).

L'exposition aux pesticides se caractérise donc par une multiplicité des voies d'exposition, ces substances pouvant pénétrer dans l'organisme par contact cutané, par ingestion et par inhalation (**Djeffal, 2013**).

2. Les pyréthriinoïdes

2.1. Généralités

Les pyréthrines sont des composés issus de fleurs de Chrysanthèmes. Ils furent utilisés dans l'antiquité comme pesticide puis redécouvertes au début du 20e siècle (**Housset et**

Dickmann, 2009). Les pyréthrinoïdes furent parmi les premières molécules synthétiques analogues aux pyréthrines naturelles, mais dont la structure chimique a été modifiée afin d'augmenter leur activité (**Housset et Dickmann, 2009**). En 1972, trois composés furent produits, plus résistants à la dégradation solaire (la perméthrine, la cyperméthrine et la deltaméthrine) (**Housset et Dickmann, 2009**). Les pyréthrinoïdes sont largement utilisés comme pesticides en agriculture comme en horticulture, mais également en médecine vétérinaire et en tant qu'insecticides domestiques (**Inspq, 2005**).

2.2. Classification

La famille des pyréthrinoïdes compte près d'un millier de molécules réparties en deux groupes, selon que la molécule possède (type II) ou non (type I) un groupement cyanure (**Fig.1**) Parmi les 15 molécules les plus couramment utilisées, on peut citer la perméthrine, la cyfluthrine, la deltaméthrine, la cyperméthrine et la tétraméthrine Il existe plusieurs isomères (2 à 8) de chacun des principaux composés présents sur le marché Les mélanges S commercialisés sont généralement composés d'un mélange de ces différents isomères qui présentent des propriétés insecticides et toxicologiques différentes (**Hermant, 2014**).

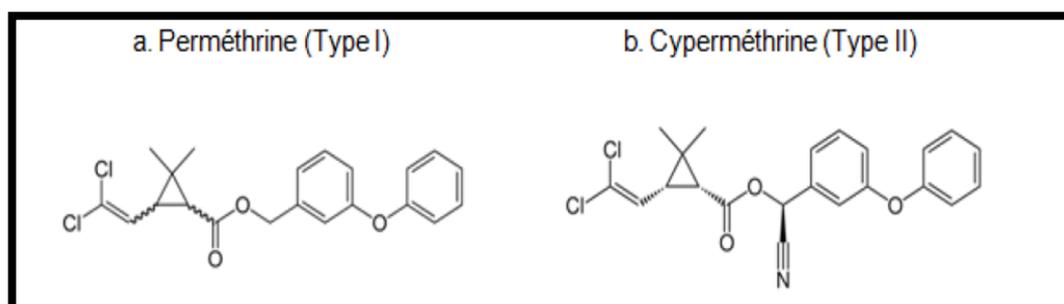


Figure 01 : formules chimique développées (a) d'un pyréthrinoïde de type (I), la perméthrine et (b) d'un pyréthrinoïde de type (II), la cyperméthrine (**Hermant, 2014**).

Chapitre II :

Pneumotoxicité

1. Généralités sur les systèmes respiratoires

Le système respiratoire constitue le lieu privilégié d'échanges avec l'environnement extérieur et représente donc une cible majeure pour les agressions de nature diverse. On peut distinguer les voies aériennes de conduction (nez, pharynx, larynx, trachée et bronches) et la partie respiratoire, c'est-à-dire les voies aériennes inférieures qui constituent la plus grande surface d'échanges gazeux (majeure partie des poumons : bronchioles, canaux alvéolaires et alvéoles). Tous les éléments du tractus sont en continuité (**Raoul, 2005**).

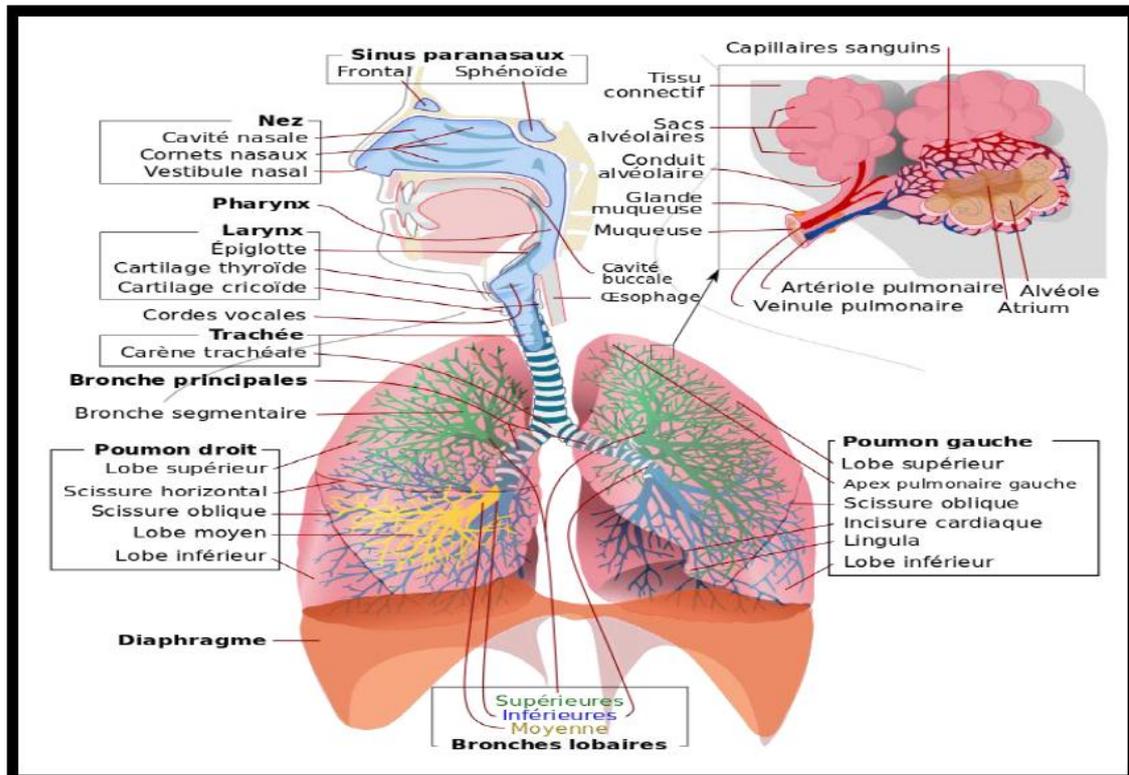


Figure02 : L'appareil respiratoire (Galmès, 2013).

1.1. Histologie du poumon

Tout l'arbre respiratoire, du larynx sous-glottique jusqu'aux bronchioles terminales, est tapissé par un revêtement respiratoire pseudo stratifié cilié associant trois types cellulaires principaux : des cellules épithéliales ciliées, des cellules mucosécrétantes et des cellules basales (**Westeel, 2012**). L'histologie de l'arbre bronchique et pulmonaire se caractérise par le passage progressif d'un type d'épithélium à l'autre au fur et à mesure des ramifications (**Bouhraoua.I et Meziane.N, 2018**). L'épithélium de type trachéal, pseudo-stratifié, cilié et contenant des cellules caliciformes, devient de moins en moins haut dans les bronches segmentaires pour céder la place, dans les bronchioles terminales, à un épithélium cylindrique

simple, dépourvu de cellules caliciformes et caractérisé par un type cellulaire spécialisé, la cellule de Clara. Les bronchioles terminales s'ouvrent sur les alvéoles pulmonaires, tapissées de pneumocytes de type I et II (Bouhraoua.I et Meziane.N, 2018).

1.2. Physiologie du poumon

• Anatomie de l'appareil respiratoire

La majorité des êtres vivants dépend fortement de la respiration cellulaire et donc de l'oxygène (O₂). Chez l'homme et l'animal adapté au milieu aérien, les poumons ont pour rôle de fournir en oxygène le système circulatoire sanguin ainsi que de débarrasser ce dernier du dioxyde de carbone (CO₂). Afin d'accomplir leur fonction, les poumons mobilisent 6 litres d'air par minute (L/min) en moyenne au repos et jusqu'à 200 L/min en cas d'exercice intense (Parpaleix, 2016). Ces organes sont situés dans le thorax et sont reliés par la trachée avec les voies aériennes supérieures (nez-bouche, larynx et une partie de la trachée). Ils forment avec ces dernières l'appareil respiratoire (Fig3). Le parenchyme pulmonaire est recouvert par une séreuse, la plèvre : elle est constituée de deux feuillets séparés par un espace vide, la cavité pleurale. L'un des feuillets appelé plèvre viscérale est accolé aux poumons alors que l'autre, la plèvre pariétale, est accolé à la cage thoracique. Ils limitent les frottements occasionnés par les mouvements respiratoires (Parpaleix, 2016).

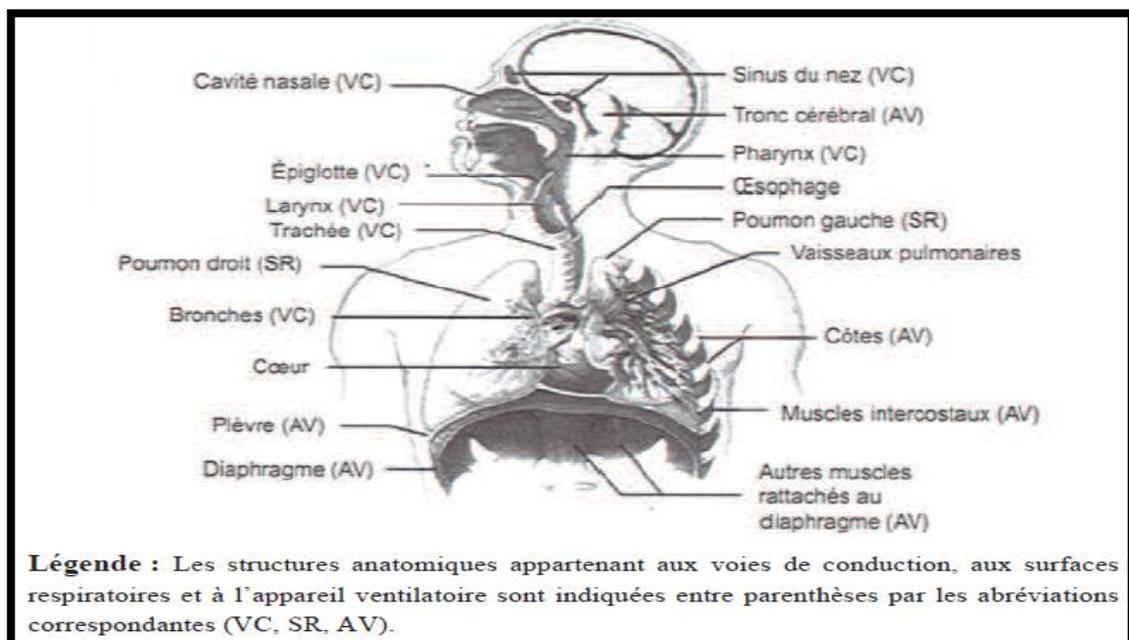


Figure 03 : Anatomie sommaire du système respiratoire (Parpaleix, 2016).

- **Les alvéoles et la barrière alvéolo-capillaire**

Les voies conductrices, dont le diamètre diminue jusqu'aux alvéoles, amènent l'air aux cents millions d'alvéoles environ qui composent les poumons, afin de recharger le sang en O₂ et de le décharger en CO₂. La surface d'échange alvéolaire représente chez l'Homme environ 140 m² (Loret, 2017). L'échange de gaz se fait au niveau de la barrière alvéolo-capillaire qui est composée de l'épithélium alvéolaire, de la lame basale et de l'endothélium des vaisseaux sanguins (Loret, 2017) (Fig. 4).

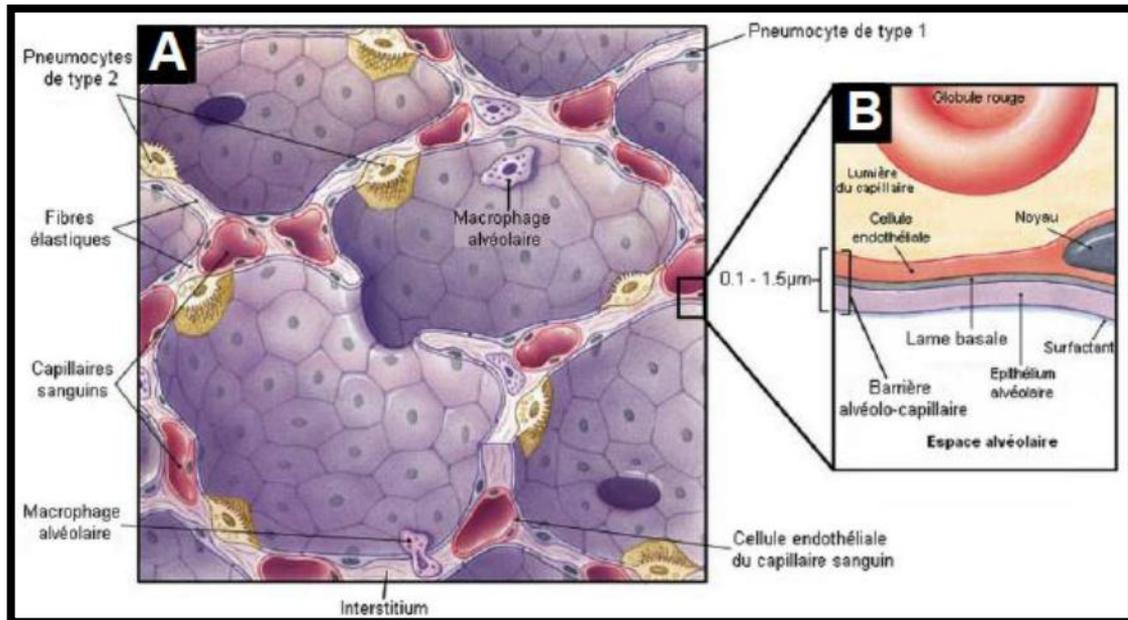


Figure 04 : Représentation schématique des alvéoles (A) et de la barrière alvéolo-capillaire (B) (Dékali, 2013).

- **Circulation pulmonaire**

On distingue deux circulations : la circulation systémique qui permet d'acheminer le sang riche en oxygène vers tous les organes et la circulation pulmonaire qui permet les échanges gazeux via les poumons entre l'organisme et l'environnement. La circulation générale, qui comprend la circulation systémique et la circulation pulmonaire, est assurée par l'appareil cardio-vasculaire (Parpaleix, 2016).

- **Appareil ventilatoire**

La ventilation pulmonaire est un phénomène périodique. Il s'agit de mouvements permanents involontaires de la cage thoracique mais qui sont contrôlables. Ils permettent l'inspiration et l'expiration. Le cycle respiratoire (Pinazo, 2018).

Comprend la succession de deux phénomènes : l'inspiration et l'expiration. L'inspiration est un phénomène actif qui a lieu au moment de l'entrée d'air dans la cage thoracique, avec la

contraction de muscles intercostaux et élévateurs des côtes ainsi que la contraction du diaphragme (volume du thorax augmenté) (Pinazo, 2018). L'expiration est un phénomène passif avec expulsion de l'air de la cage thoracique grâce au relâchement des muscles intercostaux et élévateurs et du diaphragme (diminution de la capacité de la cage thoracique et du volume des poumons). La ventilation est contrôlée par des centres nerveux bulbaires qui sont sous le contrôle du cortex et qui se trouvent au niveau du tronc cérébral (Pinazo, 2018).

1.3. Fonctionnement du système respiratoire

- **Fonction de purification de l'air**

La purification de l'air est réalisée en premier lieu par filtration à travers les vibrisses (poils tapissant dans la cavité nasale) (Angely, 2018). Le nez est le principal site de dépôt des particules dans les voies aériennes, mais l'efficacité du filtre dépend du diamètre des particules inhalées : plus leur diamètre est grand, plus le dépôt initial est important. Les particules ayant un diamètre supérieur à 12 μm sont stoppées alors que les particules de 2 à 12 μm sont éliminées via un second mécanisme appelé « épuration mucociliaire » (Angely, 2018).

- **Fonction d'échanges gazeux**

L'épithélium alvéolaire est recouvert d'un film situé entre la surface des cellules alvéolaires et le surfactant (André Dias, 2017). L'homéostasie de ce film fin résulte de l'équilibre entre les forces mécaniques, hydrostatiques et osmotiques s'exerçant au travers de la barrière entre l'espace interstitiel et l'espace alvéolaire, et d'un mécanisme de résorption active. Le surfactant est essentiel au bon déroulement des échanges gazeux. En effet, il empêche le collapsus des alvéoles lors du cycle respiratoire considérant que les très petits diamètres alvéolaires (environ 300 μm chez l'Homme) (André Dias, 2017).

- **Fonction de barrière**

La membrane alvéolo-capillaire est un site important pour les échanges gazeux (voir paragraphe Fonction d'échanges gazeux), mais en tant qu'interface entre l'air et le sang, cette membrane constitue aussi une barrière sélective pour de nombreuses substances. Les microorganismes et un grand nombre de substances présentant une plus ou moins grande toxicité, sont filtrés par cette membrane. À cet effet, les pneumocytes sont reliés entre eux par des complexes fonctionnels (Angely, 2018). Les jonctions intercellulaires sont de 3 types : les zonula adherens qui contiennent des molécules d'adhésion intercellulaire contribuant à l'adhésion intercellulaire et à la reconnaissance épithéliale, les desmosomes composés de protéines et impliqués dans l'intégrité de l'épithélium et enfin, les jonctions serrées. Elles confèrent à l'épithélium respiratoire son rôle de barrière physique (Angely, 2018).

- **Mécanismes de défense système respiratoire**

a) Au niveau de la région nasale :

La première ligne de défense est la région nasale ; Comme il l'air été étudié précédemment, les cornets nasaux permettent un mélange efficace et une humidification de l'air inspiré. Ceci crée un mécanisme de filtration de telle sorte que beaucoup de particules en suspension dans l'air inhalé n'atteindront pas les régions profondes de l'appareil respiratoire (**Duprat, 2006**).

b) Au niveau de la région trachéo-bronchique :

La région trachéo-bronchique est constituée à la fois de conduits aérifères très larges et très étroits. Par conséquent des substances de toute taille et de toute composition chimique peuvent être déposées dans cette région. Les nombreuses bifurcations de la région trachéo-bronchique sont des sites privilégiés pour les dépôts dans cette région (**Duprat, 2006**).

c) Au niveau de la région pulmonaire :

Les macrophages alvéolaires constituent la première ligne de défense contre les petites particules inhalées qui atteignent les régions profondes de l'arbre respiratoire. Ils jouent un rôle clé dans la prise en charge et la destruction de ces agents exogènes (225). Ces cellules localisent ces agents soit par des mouvements aléatoires soit à l'aide de substances chimotactiques. Leur nombre peut considérablement augmenter en cas de dépôt accru de particules dans les poumons (**Duprat, 2006**).

2. Pneumo toxicité

- Les poumons, ces organes spongieux, volumineux et conique, jouent un rôle vital puisqu'ils sont chargés de l'apport en oxygène dans l'organisme.

Peuvent être sujet à l'action de certains toxiques soit par inhalation ou par voie systémique (**Boland, et al., 2014**).

- **Définition de pneumo toxicité**

- Ensemble des altérations fonctionnelles et structurelles du système respiratoire, induites directement ou indirectement par un Xénobiotique, quelle que soit la voie de pénétration.
- Peut-être aiguë ou chronique ; réversible ou irréversible (**Boland, et al., 2014**).

Chapitre III :

Stress

Oxydatif

1. Généralités

Lorsque l'un des systèmes protectifs de l'organisme contre la toxicité des radicaux libres (RL) montre un échec, l'action des radicaux libres devient incontrôlable, ce qui conduit à des dommages au niveau des molécules, des cellules, des organes et potentiellement à la mort de l'organisme (Durackova et al, 2008). La conséquence des effets nocifs des RL et des métabolites réactifs est dite «stress oxydant». Ce terme est défini initialement comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les pros oxydants et les antioxydants en faveur des premiers (Barouki, 2006 ; Jenkins et al, 2007).

Cette définition ne signale aucun effet délétère d'un tel changement sur la fonction des tissus et n'indique pas l'origine de ce déséquilibre s'il est dû à une augmentation de la production des oxydants ou à une diminution de la capacité réductrice des tissus (Barouki, 2006) (fig.5). Selon les points de vue actuels, le stress oxydant peut être défini comme étant un déséquilibre entre la production et l'élimination des métabolites réactifs de l'oxygène et du nitrogène en faveur de leur production conduisant à des dommages potentiels (Durackova, 2008) et à des dégâts cellulaires irréversibles (Kehili, 2018, et Abuja et Albertini, 2001).

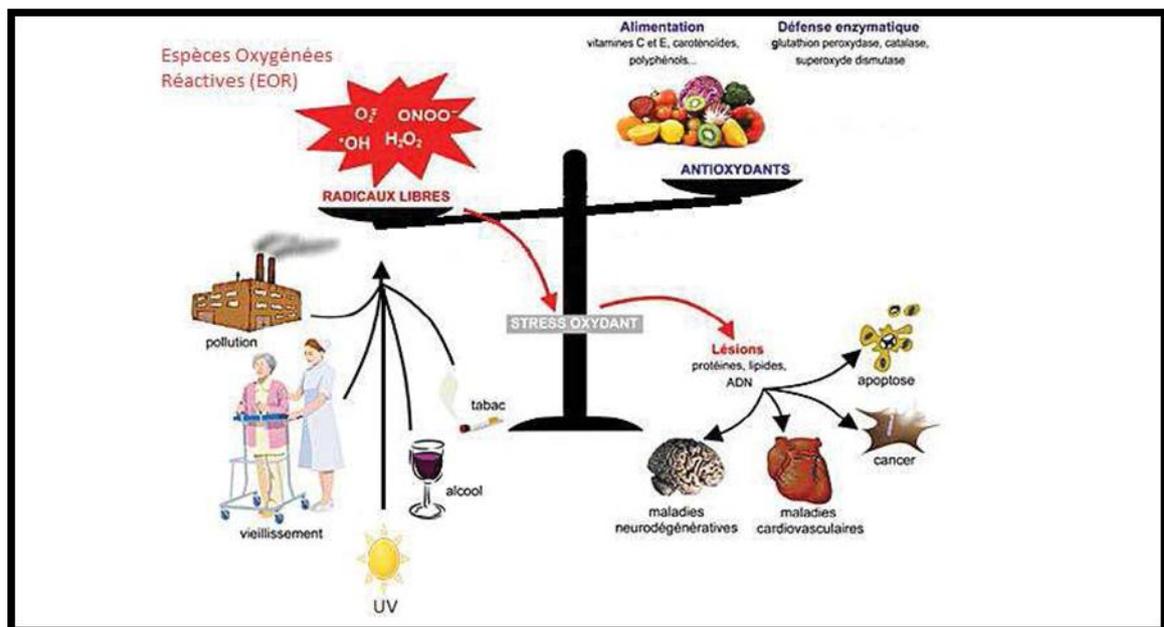


Figure 05 : le stress oxydant : une conséquence du déséquilibre de la balance oxydante (Rosell, 2018).

2. Effets des radicaux libres sur l'organisme

2.1. Peroxydation lipidique

Peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne car le radical peroxyde formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical diène conjugué. Les hydroperoxydes peuvent subir plusieurs modes d'évolution : être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase ou continuer à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes acides et en alcanes (éthane, éthylène, pentane) qui, de par leur volatilité, sont éliminés par voie pulmonaire (**Favier, 2003**).

Le radical peroxyde, après évolution en un peroxyde cyclique et coupure de la molécule, peut libérer différents aldéhydes toxiques dont le malonaldialdéhyde ou l'hydroxynonanal. La transmission en chaîne de la réaction de peroxydation lipidique est stoppée par la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidique des membranes (**Favier, 2003**).

2.2. Oxydation des protéines

Les radicaux libres oxygénés induits des modifications dans les structures primaires, secondaires et tertiaires des protéines par la formation des dérivés protéiques carbonylés via plusieurs mécanismes incluant la fragmentation et l'oxydation des acides aminés (**Gasmi, 2018**).

2.3. Oxydation de l'ADN

Les radicaux libres attaquent les nucléotides de l'ADN par modification des bases azotées, par rupture des brins de la chaîne nucléotidique, ou par déstabilisation de la forme géométrique de l'ADN en rompant les liaisons hydrogène entre bases complémentaires (**Karay, 2013**). Ils peuvent être à l'origine de multiples lésions cellulaires en attaquant les membranes cellulaires. Ces actions conduisent à la progression des maladies telles que, le vieillissement cellulaire et les cancers (**Karay, 2013**).

3. Antioxydants

3.1. Système antioxydant enzymatique

3.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

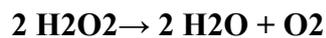
La SOD fait partie du principal arsenal de défense de l'organisme contre le stress oxydatif. Cette enzyme antioxydant catalyse la dismutation de l'en H_2O_2 , moins réactif, et en O_2 moléculaire (**Bourgoin, 2012**). Chez l'humain, il existe trois types de SOD : la SOD mitochondriale, la SOD Cuivre/Zinc et SOD extracellulaire. De la SOD serait réduite chez des patients souffrant d'hypertension (**Bourgoin, 2012**).

3.1.2. Glutathion peroxydase (GPx)

C'est la deuxième ligne de défense enzymatique, empêche la formation des radicaux libres, chez les mammifères (**Gasmi ,2018**). C'est une enzyme à sélénium présente dans le cytosol et la mitochondrie. Elle peut réduire d'une part l' H₂O₂ en H₂O et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcool (ROH) (**Gasmi ,2018**).

3.1.3. Catalase (CAT)

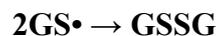
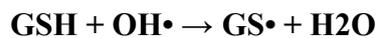
La catalase est une enzyme intracellulaire, localisée principalement dans les peroxysomes. Elle catalyse la réaction de détoxification du H₂O₂ (généralement produit par la SOD). Elle est surtout présente au niveau des globules rouges et des hépatocytes (**Zerargui, 2015**).



3.2. Système antioxydant non enzymatique

3.2.1. Glutathion (GSH)

Le glutathion (GSH) est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Avec son groupement sulfhydryle, il est le thiol majoritaire au niveau intracellulaire et est essentiellement présent sous forme réduite (la concentration de la forme oxydée dissulfure GSSG est au moins 10 fois plus faible). Le GSH joue son rôle



d'antioxydant en tant que substrat d'enzymes antioxydantes telles que les glutathion peroxydases (GPx) (**Couto et al ; 2013**).

3.2.2. Vitamines

Vitamine E et vitamine C

La vitamine E (α -tocophérol) et C (acide ascorbique) semblent être des plus importants dans la lutte contre le stress oxydant (**Evans, 2000**). La vitamine E étant liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique. La vitamine C, hydrosoluble, se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire ; elle peut capter directement l'O₂^{•-} et l'OH[•]. Elle peut aussi réduire le radical α -tocophérol et ainsi permettre une meilleure efficacité de la vitamine E (**Fig.6**) (**Evans, 2000**).

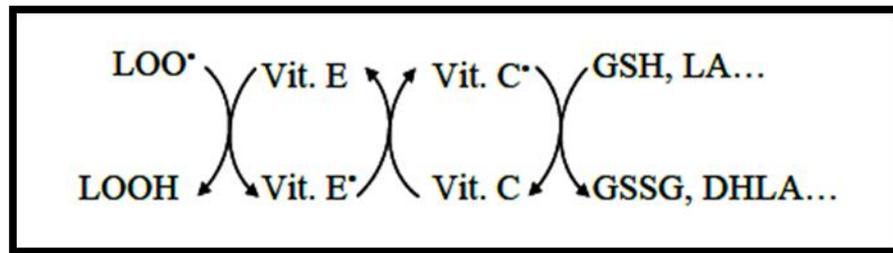


Figure 06 : Réactions d'élimination des radicaux lipidiques par les vitamines E et C
(Evans, 2000).

3.2.3. Oligoéléments

Les oligo-éléments, sont des micronutriments sans valeur énergétique propre, mais dont la présence est essentielle au métabolisme. Ce sont généralement des métaux ou des métalloïdes constituant moins de 0,01% du poids corporel les plus importants sont le sélénium et le zinc (Beausir, 2011). Les micronutriments, qui recouvrent les oligo-éléments (sélénium et zinc) et les vitamines (E, C, bêta-carotène), sont vitaux pour chaque être vivant et ont une activité antioxydante et sont donc susceptibles d'intervenir dans les mécanismes de protection contre la production de métabolites de l'oxygène actif (Mette, 2003). En excès, ces derniers entraînent un vieillissement précoce et contribueraient à l'apparition de certains types de cancers, de maladies cardiovasculaires et inflammatoires ainsi qu'à la formation des cataractes (Mansouri, 2014). Des études récentes ont mis en évidence qu'un grand nombre d'enzymes intervenant dans la régulation des voies métaboliques ont besoin des oligoéléments pour leurs fonctionnements. De ce fait, la carence en ces éléments peut avoir de nombreuses conséquences sur la santé et entraîne des troubles et anomalies diverses, des problèmes immunitaires, de graves problèmes cardio-vasculaires, des infections et des cancers. Certains oligoéléments, tels que le sélénium et le zinc, ont une action sur les radicaux libres, véritables ennemis de nos cellules (Mansouri, 2014).

3.2.4. Ubiquinones et cytochrome C

Il a été décrit précédemment que les ubiquinones, sous leur forme semi-radicalaire, jouaient un rôle fondamental dans la production de ROS. Inversement, il a pu être défini que la forme "ubiquinol" agissait comme antioxydant (Power et Lennon, 1999). L'ubiquinol protège les membranes de la peroxydation lipidique par une diminution de la formation et de la propagation de radicaux peroxy. L'ubiquinone est également impliquée dans la régénération de la vitamine E ce qui amplifie son rôle protecteur contre les ROS (Power et Lennon, 1999).

Le cytochrome c présent dans l'espace inter membranaire a un rôle de détoxification en captant l'électron libre d'O₂•⁻ produit au niveau de la chaîne respiratoire. Ainsi réduit, il cède cet électron au complexe IV formant du cytochrome c oxydé et de l'H₂O (**Power et Lennon, 1999**).

3.2.5. Polyphénols

Les polyphénols sont des molécules organiques hydrosolubles largement retrouvées dans le règne végétal. Ils sont issus du métabolisme secondaire des plantes. Ils sont principalement synthétisés par la voie du shikimate (**Guillouty, 2016**) Cette voie métabolique est présente uniquement chez les bactéries, champignons et les plantes. C'est pourquoi l'alimentation apporte des acides aminés essentiels non synthétisés par le corps humain (**Guillouty, 2016**) Les polyphénols sont capables de piéger des espèces radicalaires et de chélater les métaux de transition comme le Fer et le Cuivre qui permettent de catalyser les oxydations (**Guillouty, 2016**). Ils sont cependant présents en faible concentration dans le plasma et sont principalement retrouvés sous forme conjuguée et donc n'ont probablement que des effets indirects in vivo (**Guillouty, 2016**) Il paraît néanmoins que les polyphénols interagissent avec des cibles protéiques (enzymes, signalisation intracellulaire, récepteurs nucléaires...) ce qui leur assure des effets anti-athérogéniques, anti-inflammatoires, anti-thrombotiques, anti-cancérogènes (**Guillouty, 2016**).

Partie

Expérimentale

Materiels

Et

Méthodes

1. Matériel et méthodes

1.1. Matériel

1.1.1. Matériel végétal

- *Citrillus colocynthis*

Citrillus colocynthis L Schrad ou coloquinte est une plante vivace appartenant à la famille des Cucurbitaceae (Soufane.S ; 2018) ; *Citrillus colocynthis* a une riche histoire comme plante médicinale et comme source d'huile précieuse. Les différentes parties de cette espèce sont utilisées en médecine traditionnelle en fonction de leur mode de préparation (décoction, pulvérisation, macération des graines), contre les hémorroïdes en application locale des graines pulvérisées, l'ictère, l'ascite, le rhumatisme, les aménorrhées, et les désordres gastro-intestinaux (dysenteries, constipation). Plusieurs études ethnobotaniques et pharmacologiques ont rapporté l'utilisation de cette plante pour le traitement du diabète (Sari. hassoun, 2015).

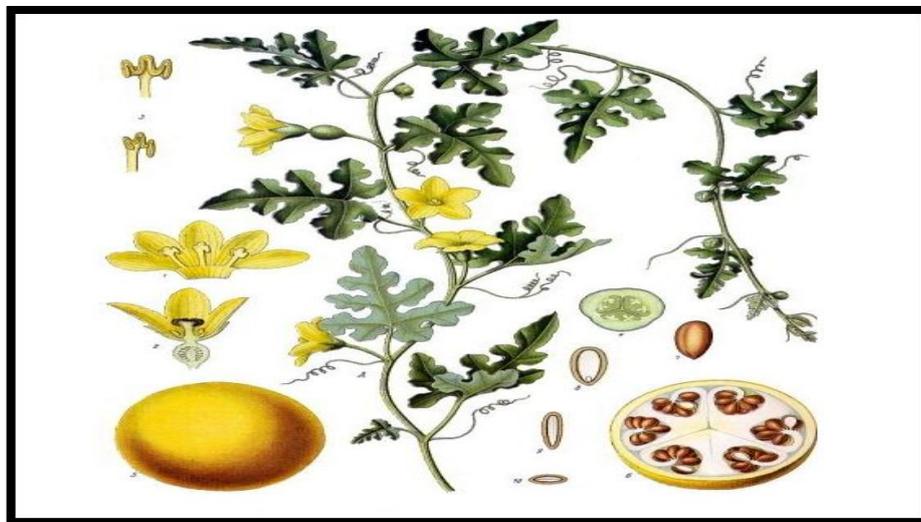


Figure07 : Le plante *Citrullus colocynthis* (Soufane, 2018).

1.1.2. Matériel chimique

Dans ce travail, nous avons utilisé d'une part les pesticides de deltaméthrine pour le traitement des rats sous forme solution à une dose de 0,32mg/kg/j, et d'autre parts l'extrait de plante *Citrullus colocynthis* en solution aqueuse à une dose 200mg/kg/j.

- **Le pesticide Deltaméthrine**

La deltaméthrine [C₂₂H₁₉Br₂NO₃] la matière active du Décis® est un insecticide de la famille des pyréthrinoïdes qui agit principalement au niveau des canaux sodium des fibres nerveuses qu'elle bloque en position ouverte (Rey, 2012).

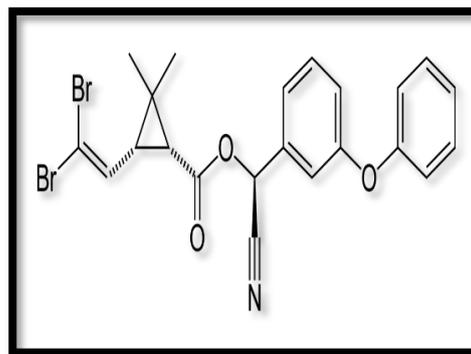


Figure08 : Deltaméthrine) Décis®

- **Préparation de la solution aqueuse de *Citrullus colocynthis***

L'extraction en milieu aqueux a été réalisée par hydrodistillation avec un appareil de type **Clevenger** au sein du laboratoire de chimie de l'université de Tébessa, 350 g de la matière végétale est imbibée dans 1500 ml d'eau distillée le montage contenu dans un ballon de 2 l, chauffé à reflux à l'aide d'un chauffe-ballon pendant 4 à 5 heures.

Remarque : les feuille et le fruit été broyé avant mette dans le ballon à des marcou.



Figure 09 : Montage de l'extraction par **cleverger**.

1.1.3. Les animaux de laboratoire

La présente étude a été réalisée sur des rats mâles *Rattus rattus* de la souche Wistar au de 16 rats, provenant de l'institut Pasteur d'Alger, âgés de 06 à 08 semaines pesant environ 150-290g. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs. Largement utilisés dans divers domaines de la recherche expérimentale.



Figure 10 : Rat male de la souche Wistar.

1.2. Méthodologie

1.2.1. Protocole expérimental

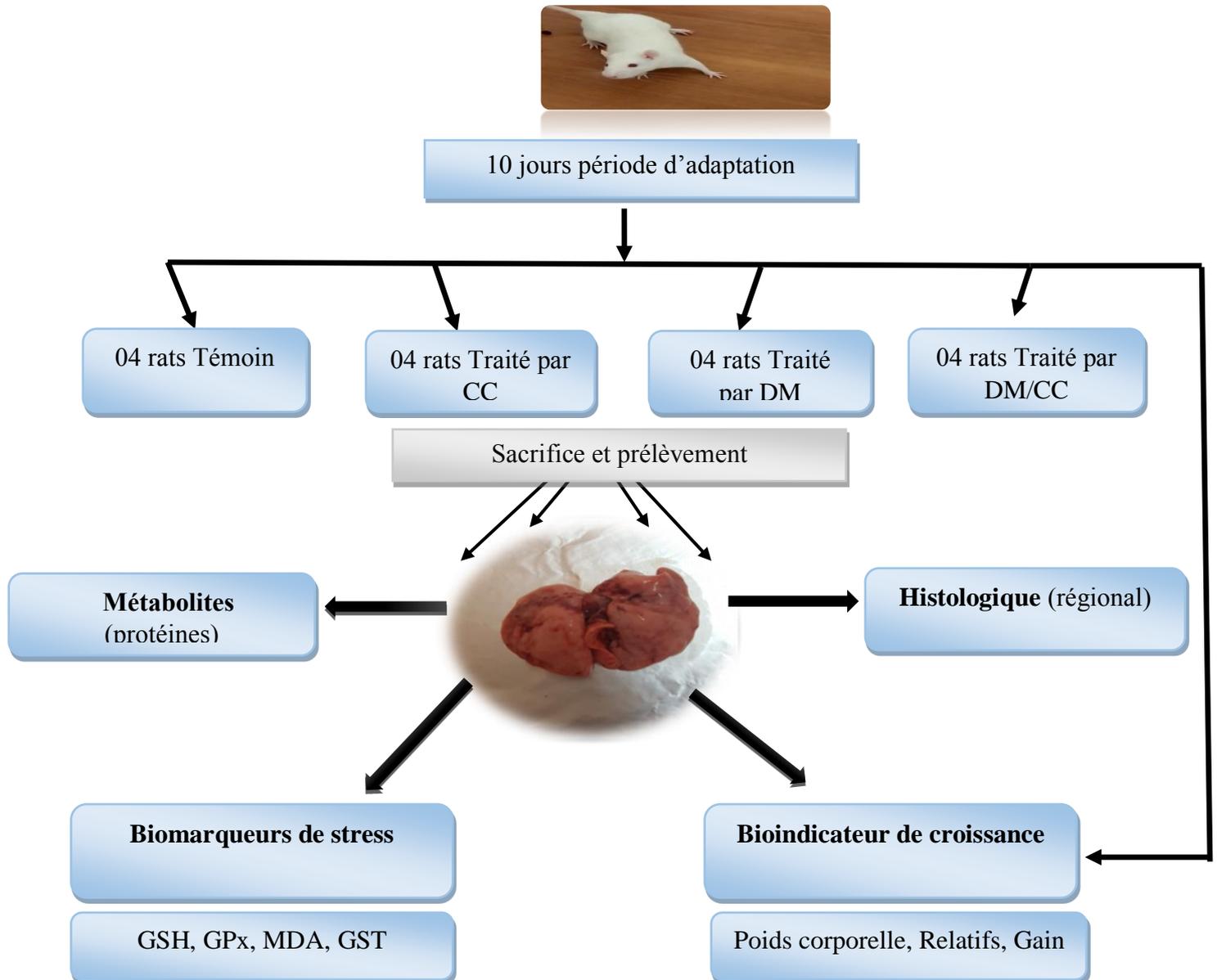


Figure11 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental

1.2.2. Entretien des animaux

Les rats ont été répartis en quatre (04) lots à raison de quatre (04) rats par lot. Ils ont été soumis à une période d'adaptation d'un mois dans l'animalerie de département de biologie, Faculté des Sciences, Université de Tébessa. La température ambiante est de $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ et une photopériode naturelle 12/12h avec une hygrométrie de 60 %. Les rats sont élevés dans des cages en polyéthylène (04 rats pour chaque cage) qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages sont nettoyées et la litière est changée une fois par deux jours jusqu'à la fin de l'expérimentation. Les animaux ont été nourris d'un concentré de pain et maïs.



Figure 12 : Conditions d'élevage des rats

Dans tous les périodes de traitement on pèse les rats pour trouver les poids.



Figure 13 : Prise du poids des rats.

1.2.3. Choix des doses

Dans cette étude, nous avons utilisé un seul pesticide (la deltaméthrine) à la dose de 0,32mg/kg/j administrée subaiguë par voie orale pendant un mois. Le choix de ces doses est basé sur des études réalisées sur l'exploration de ce pesticide dans les matrices biologiques qui ont montré des valeurs de 0,2 à 800ng/g de deltaméthrine (DM) dans le miel (Haddadi & Shirani, 2014 ; Shirani et al., 2016). Il est à mentionner que ces doses sont très proches à la réalité et sont susceptibles de contaminer la population générale. Par ailleurs, la dose de *Citrullus colocynthis* (L) Schrad (CC) était de 200mg/kg/j selon des études récentes.

1.2.4. Répartition et traitement des rats

Notre expérience est divisée en 4 lots les suivants :

- **Lots n°1** : contient 4 rats témoin (T) reçoit l'eau distillée par gavage.
- **Lots n°2** : contient 4 rats traités par la CC recevant 200mg/kg/jour pendant 10 jours par voie orale.
- **Lots n°3** : contient 4 rats traités par la DM à la dose de 0,32mg/kg/jour pendant 10 jours par voie orale.
- **Lots n°4** : contient 4 rats traités par la DM à la dose de 0,32mg/kg/jour et par la CC recevant 200mg/kg/jour pendant 10 jours par voie orale.

1.2.5. Evaluation des effets de pesticide et de *Citrullus colocynthis* chez le rat

1.2.5.1. Mesure de poids

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

1.2.5.2 Etude de l'intégrité cellulaire et moléculaire

A. Sacrifice et prélèvement des poumons

A la fin de la période d'administration des xénobiotiques (DM et CC) de 10 jours, les animaux sont sacrifiés par décapitation, les poumons ont été rapidement prélevés et rincés dans l'eau distillée puis pesés et conservés au congélateur pour le dosage des différents paramètres, et l'autre fixée dans le formol afin de réaliser des coupes histologiques.



Figure14 : Rats sacrifiés.



Figure 15 : Poumons prélevées après sacrifice.

B. Estimation du poids relatif du poumon

Le poids relatif des poumons extraits des rats (PRp [g/100g de poids corporel]) est calculé par rapport au poids total du rat selon la formule suivant :

$$\text{PRP (g/100g de PT)} = \text{PP/PT} \times 100$$

PP : poids des poumons (g). **PT** : poids total de rat (g). **PRp** : poids relatif des poumons (g)

C. Evaluation des paramètres de stress oxydatif

➤ Dosage de glutathion (GSH)

Le dosage du glutathion est réalisé selon la méthode de Weckbeker et Cory (1988). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance de l'acide 2-nitro-5-mercapturique, ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque(DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Une fois préparé, l'échantillon (cytosol/matrice) doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique (0.25%) afin de protéger les groupements-SH du glutathion. Brièvement ; les échantillons (200mg de tissu) sont mis individuellement en présence de 8 ml de solution d'EDTA (Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique) à 0,2M. Le mélange mis dans des glaçons est broyé à l'aide d'un pilon en porcelaine. L'homogénat est ensuite déprotéinisé en prenant 0.8ml de ce dernier auquel on ajoute 0.2ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) à 0.25%. Le mélange est vortexé et laissé pendant 15min dans un bain de glace, et centrifugé ensuite pendant 5min à 1000t/min. 0.5ml du surnageant est prélevé auquel est ajouté 1ml de tampon tris-HCL+EDTA (0.02M), pH 9.6. Au mélange est ajouté 0.025ml de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque(DTNB) à 0.01M dissous dans le méthanol absolu. Le mélange est laissé reposer pendant 5min à température ambiante et l'absorbance (A) est mesurée à 412nm.

➤ Dosage du MDA

Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode d'Esterbauer et al (1992). Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique, pour former un pigment rose. Une quantité de 375µl de surnageant est prélevée dans un tube sec, auquel est ajouté un volume de 150µl de la solution TBS (tris 50mM, NaCl (150mM ; pH 7.4) et 375µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%), le mélange est vortexé et centrifugé à 1000t/min pendant 10min. Un volume de 400µl est prélevé du surnageant auquel on ajoute 80µl de HCL 0.6M et 320µl de la solution tris-TBA (tris 26mM, TBA 120mM). En fin, le mélange est vortexé et est ensuite incubé au bain marie à 80°C pendant 10 minutes. La lecture de la densité optique des échantillons est mesurée par spectrophotométrie à 530 nm.

➤ Dosage de glutathion peroxydase (GPx)

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

➤ Dosage de l'activité de glutathion S-Transférase (GST)

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-Chloro-2, 4 dinitrobenzène) en d'un cofacteur le glutathion (GST), la conjugaison entraîne la formation d'une molécule nouvelle ; 1-S-Glutathionyle 2-4Dinitrobenzène 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. Les échantillons sont homogénéisés dans 1ml de tampon phosphate (0.1M, pH6). L'homogénat est centrifugé à 14000 t/min pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzymes. Le dosage consiste à faire réagir 200µl du surnageant avec 1.2ml du mélange CDNB (1mM), GSH (5mM) [20.26mg CDNB, 153.65mg GSH, 1ml éthanol, 100ml tampon phosphate (0.1M, PH 6)]. La lecture des absorbances est effectuée pendant une minute et chaque 15sec à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

D. Evaluation des paramètres biochimiques

➤ Dosage des protéines

La méthode utilisée pour le dosage des protéines est celle de Bradford (1976) qui utilise la BSA comme standard, sur le même échantillon utilisé pour doser les lipides, on récupère

leculot issu de la deuxième centrifugation auquel on a ajouté 1ml du NaOH (0.1N) et on agite énergétiquement pour la dissolution des protéines. Après, on prélève, au moyen d'une micropipette, un volume de 100µl auquel on ajoute 4ml du réactif BBC (Bleu Brillant de Coumassie) (50mg BBC +50ml d'acide orthophosphorique à 85% et on complète à 500ml avec l'eau distillée). Ainsi une couleur bleue se développe et on passe directement les échantillons pour lecture à une longueur d'onde 595nm.

E. Tests Histologiques

Les coupes histologiques ont été réalisées à l'hôpital el-chahid Omar Al-Gilani, Service d'Anatomie Pathologique. La technique utilisée est celle décrite par (Houlot ,1984) qui comporte les étapes suivantes :

La fixation des échantillons dans le formol, puis mise de ces échantillons tissulaires dans des cassettes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage des liquides. Déshydratation des échantillons à l'aide d'un appareil automatique qui permet le passage automatique et progressif des échantillons dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70%, 95% et 100%).



Figure 16 : cassette en plastique

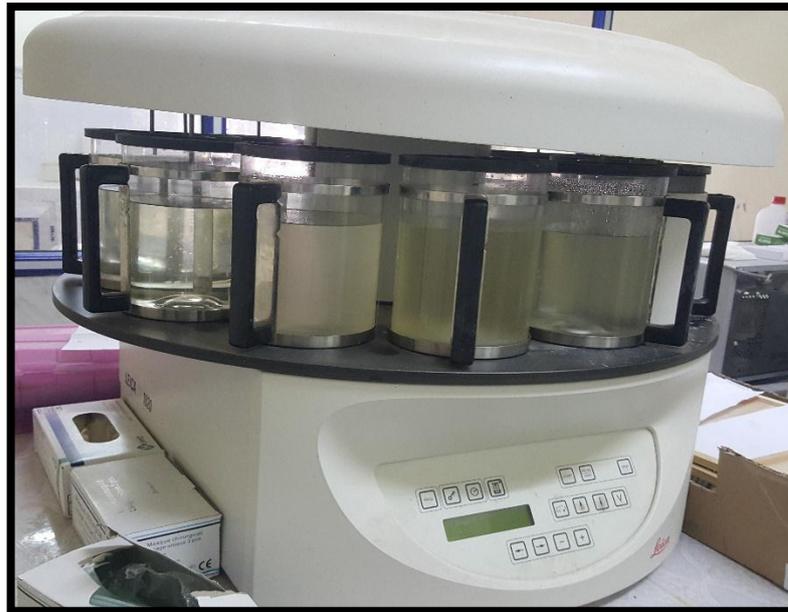


Figure 17 : Automate pour déshydratation.

Inclusion et réalisation des blocs : Les pièces sont alors plongées dans des bains de paraffine liquide. Les tissus étant maintenu et imbibés de paraffine, viennent alors l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe. 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 18 : Appareil à inclusion.

La réalisation des coupes minces de quelques microns (5 μm en moyenne) est possible grâce à des appareils spéciaux appelés « Microtomes ». Ces coupes sont étalées sur des lames porte-objet, dépliées et fixées sur la lame par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée. La coloration : Pour la coloration, la technique utilisée est celle à l'Hématoxyline-Eosine ou (Hématéine-Eosine) ; qui nécessite la présence de l'alcool acide (100 ml d'alcool éthylique à 70% + 50 ml d'acide HCl), eau ammoniacale (100 ml d'eau distillée + 2 ml Ammoniaque) et solution d'Eosine (100ml Eosine solution aqueuse à 3%, 125 ml alcool éthylique à 95%, 375 ml d'eau distillée et 2 gouttes d'acide acétique). la coloration suit les étapes suivantes :

Déparaffinage et hydratation des lames à l'eau du robinet puis rinçage à l'eau distillée. Puis sont mises dans un bain d'Hématoxyline de Harris (15 minutes) qui colore en bleu violacé les structures basophiles (noyaux). Les lames sont plongées dans l'alcool acide (1 à 2 plongées) ; ensuite dans un bain d'eau du robinet avec vérification de la différenciation au microscope.

Mises dans un bain d'eau ammoniacale, puis dans un bain d'Eosine (15 secondes à 2 minutes) qui colore en rose les structures acidophiles (cytoplasme). Tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau du robinet. Les préparations ont ensuite été séchées puis observées au microscope optique et photographiées à l'aide d'un appareil photo.



Figure 19 : Microtome.

1.2.5.3. Traitement statistique

Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne de quater répétitions (moyen \pm écart type), et pour mieux visualiser en utilisant l'office Excel 2013 pour représentés ces résultats sous forme des graphiques et des histogrammes. La signification de différence entre le lot témoin et les lots traités et le résultat de comparaison comme suivant :

- $p > 0,05$ = la différence n'est pas significative.
- (*) $0,05 > P > 0,01$ = la différence est significative.
- (**) $0,01 > P > 0,001$ = la différence est hautement significative.
- (***) $P < 0,001$ = la différence est très hautement significative.

Résultats

Résultats

2. Résultats

2.1. Effets des pesticides et de la *Citrullus colocynthis* sur les paramètres de la croissance globale

Les résultats de l'évaluation des paramètres de croissance en terme de poids corporel, le gain de poids et le poids relatif durant les 10 jours de traitement des différents groupes d'animaux par extrait de plante (**E**) et le pesticide(**D**) sont illustrés dans les **figures(20-21)**.

2.1.1. Poids corporel

En mesurant ce paramètre, nous voulions savoir la variation d'évolution du poids corporel sur le groupe qui est traité par **E** et **D**.

Les résultats de l'évaluation du poids corporel montrent une diminution très hautement significative ($p \leq 0,001$) de poids corporel chez les rats traités par **D** par rapport aux rats témoins ; Alors que pour les lots : **E** et **E+D** aucune diminution n'a été enregistrée (**fig.20-A**) ; D'autre part on enregistre une diminution du poids corporel chez le groupe traité subaigu par **D** par rapport au groupe témoin ($p \leq 0,01$) (**fig.20-B**).

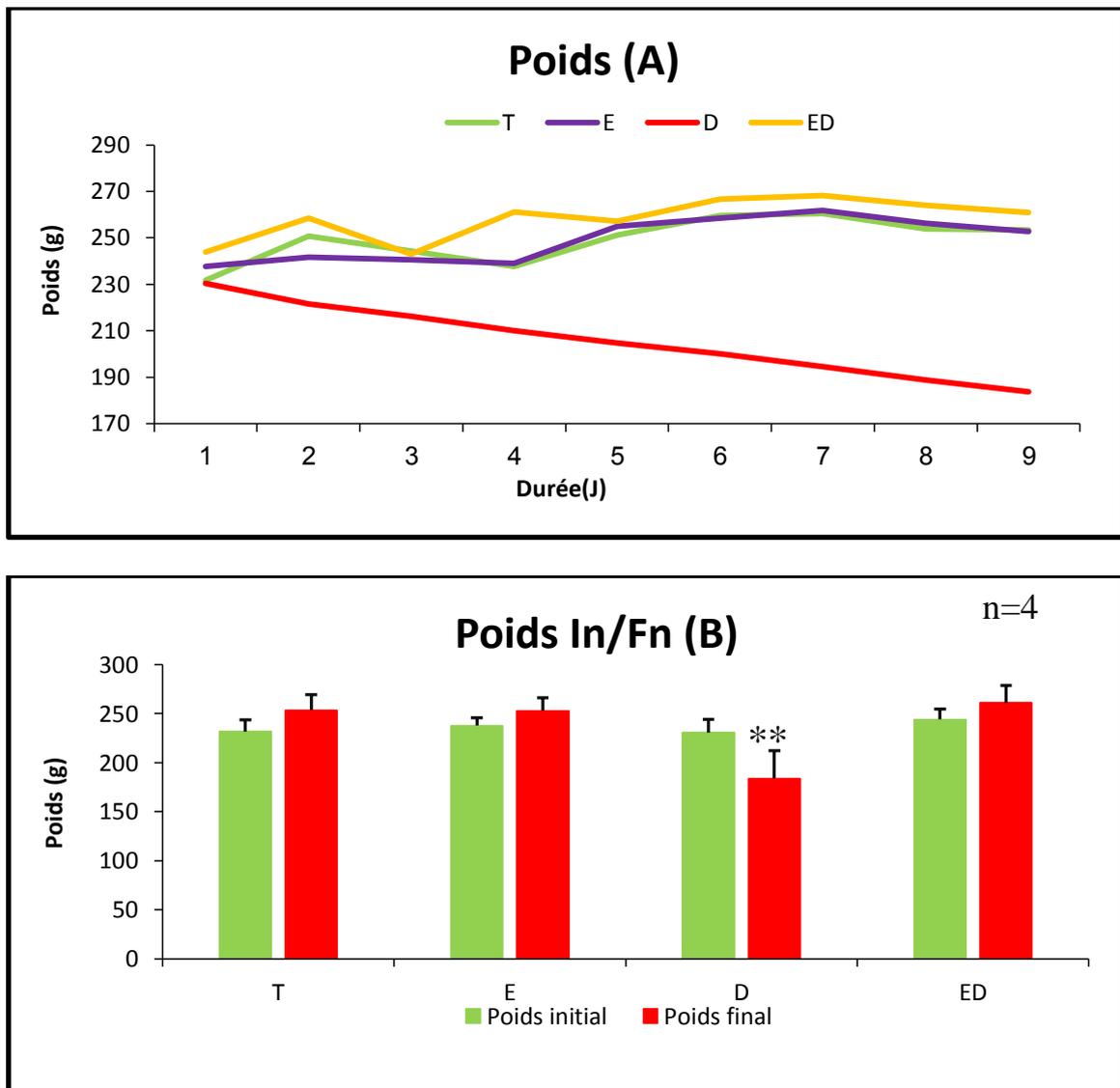


Figure 20 : Evolution du poids corporel (PC) chez les différents groupes traités par les pesticides et à la *Citrillus colocynthis*. **(A)** : changement cinétique du poids. **(B)** : Différence entre poids initial et final.

T : Témoin ; **E** : Extrait de *Citrillus colocynthis* ; **D** : Deltamethrine ; **ED** : Mixture Extrait de *Citrillus colocynthis* et Deltamethrine ; P : niveau de signification ; *Différence significative : $p \leq 0.05$; ** Différence hautement significative : $p \leq 0.01$; *** Différence très hautement significative : $p \leq 0.001$.

2.1.2. Gain de poids (GP)

Les résultats de l'évaluation du gain de poids présentent une diminution significative ($p \leq 0,001$) de gain de poids chez les lots traités par le pesticide **D** en comparaison avec le lot témoin. Ces résultats ne montrent pas une variation significative chez les rats qui sont traités par **E** et **E+D** (figure21)

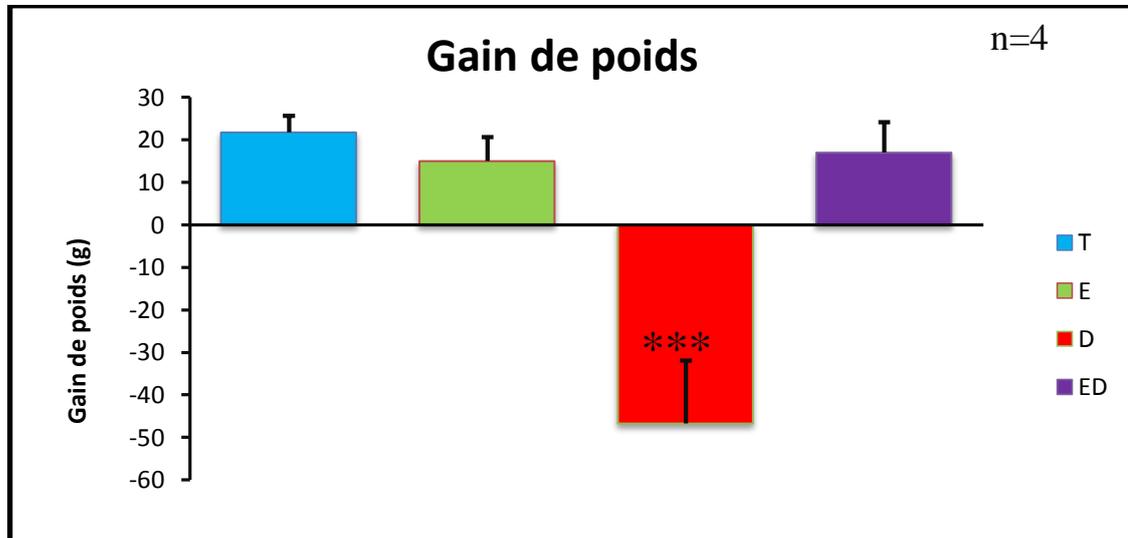


Figure 21 : Evolution du gain de poids corporel (GP) chez les rats témoins et traités après 10 jours de traitement par les pesticides et la *Citrillus colocynthis*.

T : Témoin ; **E** : Extrait de *Citrillus colocynthis* ; **D** : Deltamethrine ; **ED** : Mixture Extrait de *Citrillus colocynthis* et Deltamethrine ; P : niveau de signification ; *Différence significative : $p \leq 0.05$; ** Différence hautement significative : $p \leq 0.01$; *** Différence très hautement significative : $p \leq 0.001$.

2.1.3. Poids relatif du poumon (PRp)

Les résultats obtenus suite à l'évaluation du PR montrent une augmentation très hautement significative ($P \leq 0,01$) du poids relatif du poumon chez le groupe traité par le pesticide **D** en comparaison avec le groupe témoin, par contre chez les animaux traités par la plante **E** seule ou associée aux pesticides ils n'ont pas montré de variation significative (**figure22**).

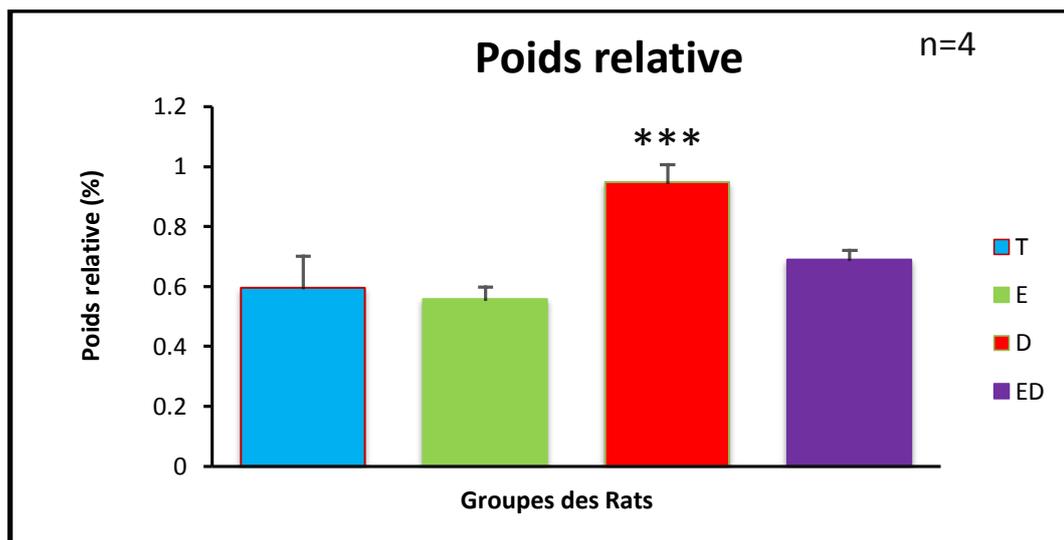


Figure 22 : Evolution du poids relatif du poumon (PRp) chez les rats traités durant 10jours par les pesticides et la *Citrillus colocynthis*.

T : Témoin ; **E** : Extrait de *Citrillus colocynthis* ; **D** : Deltamethrine ; **ED** : Mixture Extrait de *Citrillus colocynthis* et Deltamethrine ; P : niveau de signification ; *Différence significative : $p \leq 0.05$; ** Différence hautement significative : $p \leq 0.01$; *** Différence très hautement significative : $p \leq 0.001$.

2.2. Effets des pesticides et de la *Citrillus colocynthis* sur les paramètres biochimiques et statut redox

A) Glutathion (GSH)

Les résultats représentés dans **figure 23** montrent une diminution très hautement significative ($P \leq 0,001$) du taux de GSH cytosolique dans le poumon total respectivement chez les lots traités par **D** quand ils sont comparés au témoin. Et une augmentation également très hautement significative chez les rats de lot **ED** (**figure 23**).

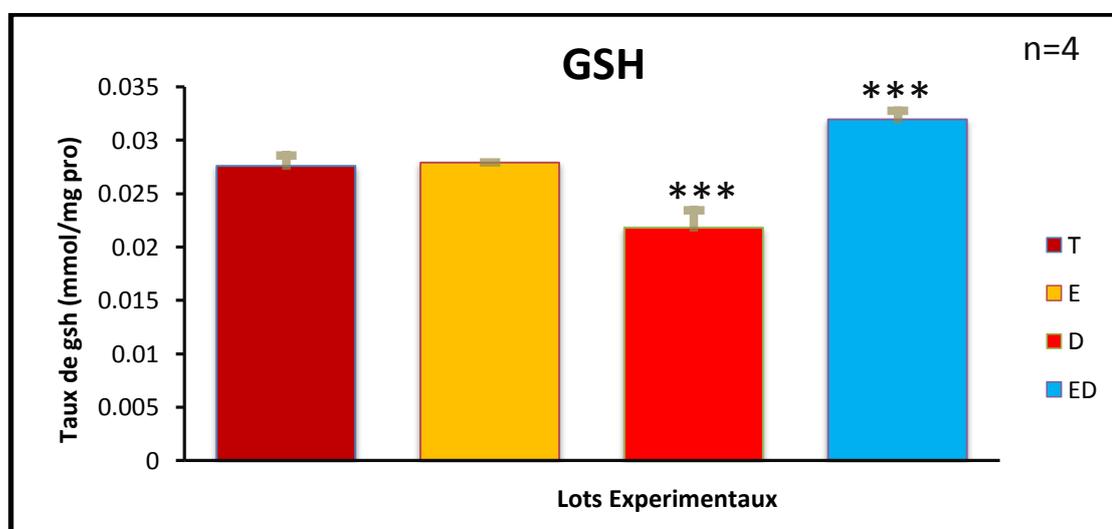


Figure 23 : Variation du taux de GSH dans les poumons des rats après 10 jours de traitement par le pesticide et de l'extrait de la plante.

T : Témoin ; **E** : Extrait de *Citrillus colocynthis* ; **D** : Deltaméthrine ; **ED** : Mixture Extrait de *Citrillus colocynthis* et Deltaméthrine ; P : niveau de signification ; *Différence significative : $p \leq 0.05$; ** Différence hautement significative : $p \leq 0.01$; *** Différence très hautement significative : $p \leq 0.001$.

B) Glutathion-s-transférase (GST)

L'analyse statistique des résultats obtenus après l'évaluation de l'activité cytosolique de GST a montré une augmentation significative ($p \geq 0,05$) (**fig.24**) du taux de GST totale chez les groupes **D** par rapport au groupe témoin ; les résultats ne montrent pas une variation significative chez les lots **E** et **E+D** (**figure 24**).

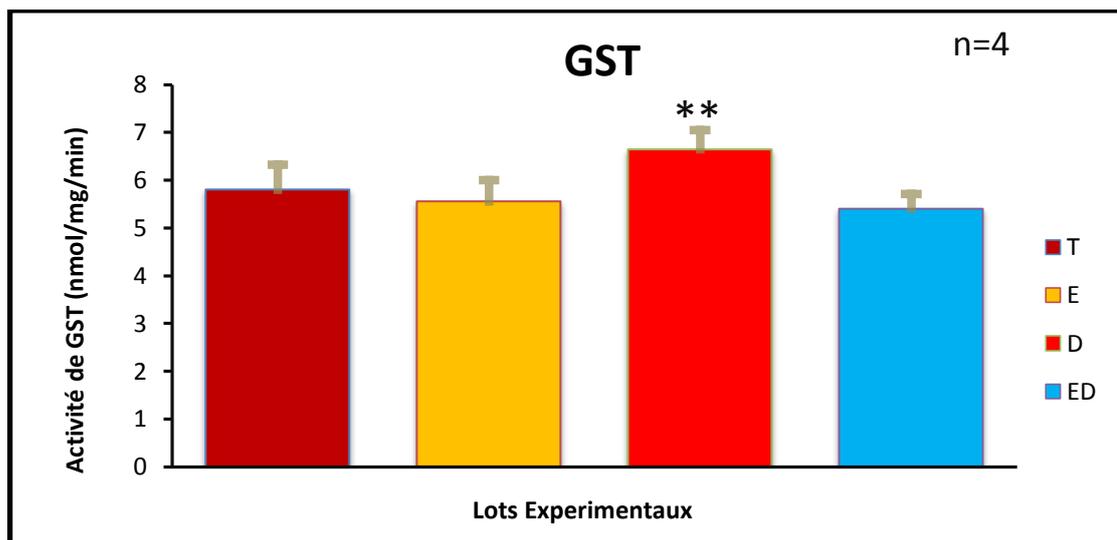


Figure 24 : Variation du taux de GST dans les poumons des rats après 10 jours de traitement par le pesticide et de l'extrait de la plante.

T : Témoin ; **E :** Extrait de *Citrillus colocynthis* ; **D :** Deltamethrine ; **ED :** Mixture Extrait de *Citrillus colocynthis* et Deltamethrine ; **P :** niveau de signification ; *Différence significative : $p \leq 0.05$; ** Différence hautement significative : $p \leq 0.01$; *** Différence très hautement significative : $p \leq 0.001$.

C) Glutathion peroxydase (GPx)

Une diminution significative ($p \leq 0,05$) de l'activité de GPx cytosolique a été enregistrée dans le cytosol des cellules pulmonaire chez les rats traités par **D** par rapport au groupe témoin. Par contre, ces mêmes résultats ne montrent pas une variation statistiquement significative chez les groupes traités par **E** et **E+D** (**figure 25**).

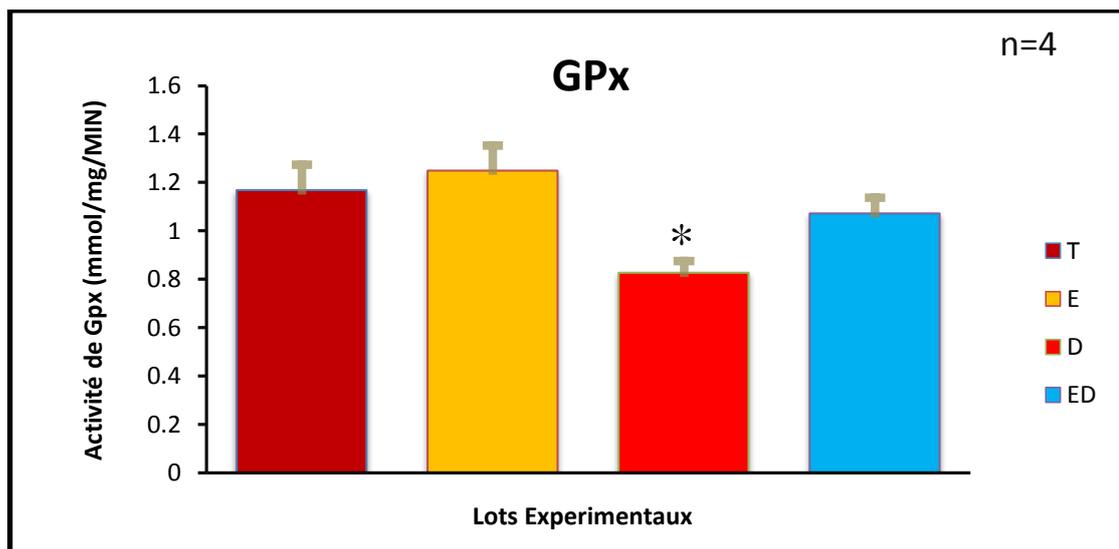


Figure 25 : Variation du taux de GPX dans les poumons des rats après 10 jours de traitement par le pesticide et l'extrait de la plante.

T : Témoin ; **E :** Extrait de *Citrillus colocynthis* ; **D :** Deltamethrine ; **ED :** Mixture Extrait de *Citrillus colocynthis* et Deltamethrine ; P : niveau de signification ; *Différence significative : $p \leq 0.05$; ** Différence hautement significative : $p \leq 0.01$; *** Différence très hautement significative : $p \leq 0.001$.

D) Malondialdéhyde (MDA)

La **figure 26** illustre une augmentation très hautement significative ($p \leq 0,001$) chez les groupes traités par **D** et une augmentation significative ($p \leq 0,05$) chez le groupe traités par la mixture **ED** comparés au témoin ; Ces résultats ne montrent pas des variations statistiquement significatives chez les groupes traités par la plante **E** (**figure 26**).

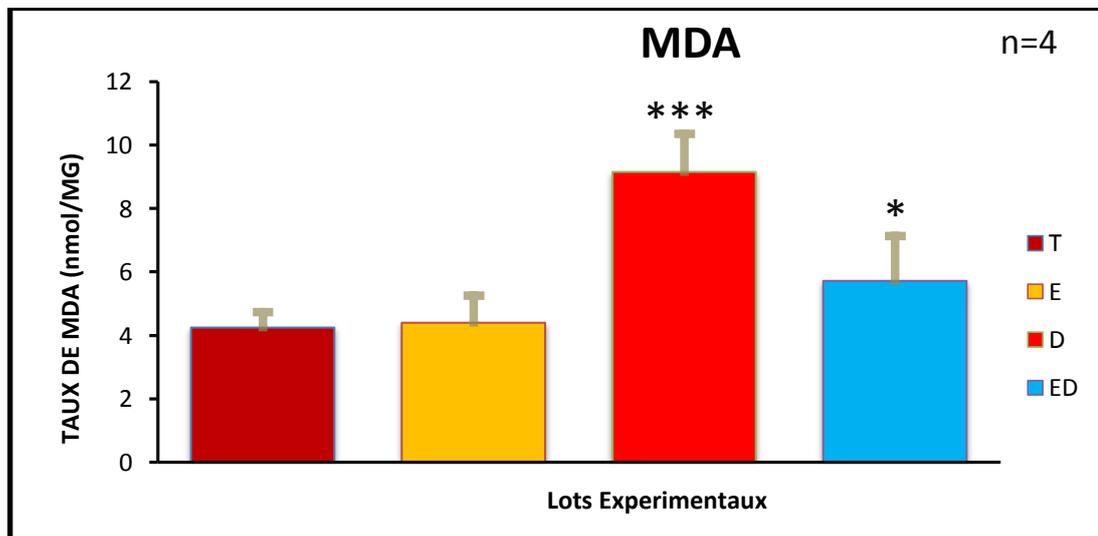


Figure 26 : Variation du taux de MDA dans les poumons après 10 jours de traitement par le pesticide et l'extrait.

T : Témoin ; **E :** Extrait de *Citrillus colocynthis* ; **D :** Deltamethrine ; **ED :** Mixture Extrait de *Citrillus colocynthis* et Deltamethrine ; **P :** niveau de signification ; *Différence significative : $p \leq 0.05$; ** Différence hautement significative : $p \leq 0.01$; *** Différence très hautement significative : $p \leq 0.001$.

F) Les protéines

Les résultats obtenus montrent une diminution significative ($p \leq 0.05$) du taux des protéines total du poumon chez les lots **D** comparés au témoin et on observe une augmentation hautement significative ($p \leq 0.01$) chez les lots traités par la mixture **ED** par rapport aux lots témoin ; mais ces derniers ne montrent pas une variation significative chez les groupes traités par la plante **E** (**figure27**).

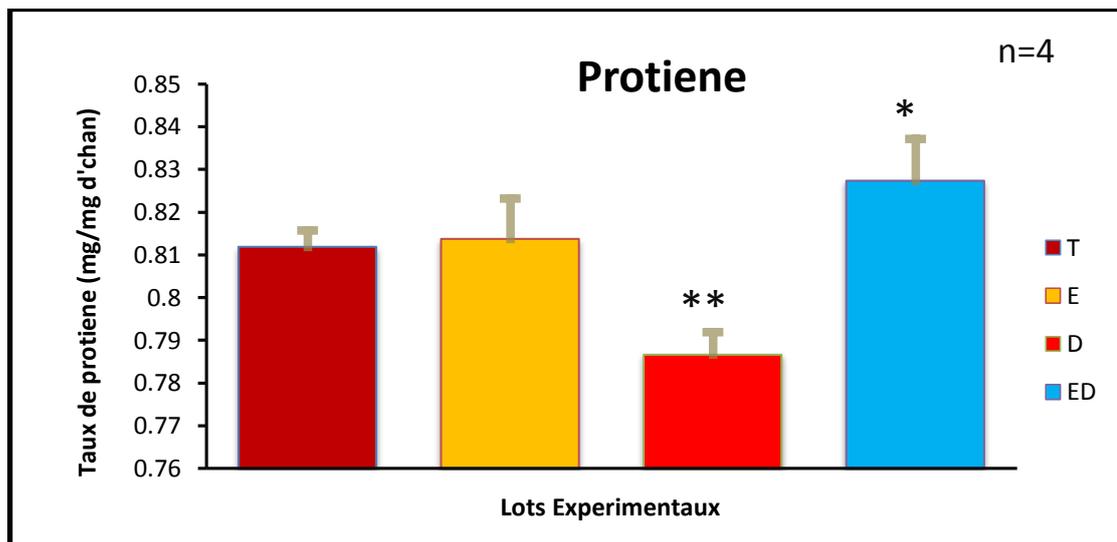


Figure 27 : Variation du taux de Protéine dans les poumons des rats après 10 jours de traitement par le pesticide et l'extrait de plant.

T : Témoin ; **E** : Extrait de *Citrillus colocynthis* ; **D** : Deltamethrine ; **ED** : Mixture Extrait de *Citrillus colocynthis* et Deltamethrine ; P : niveau de signification ; *Différence significative : $p \leq 0.05$; ** Différence hautement significative : $p \leq 0.01$; *** Différence très hautement significative : $p \leq 0.001$.

2.3. Effets des pesticides et de la *citrullus colocynthis* sur les poumons

2.3.1. Coupe histologique

Pour confirmer les résultats de paramètres biochimiques de stress oxydatif nous avons fait une procédure de test histologique sur les poumons de différents groupes des animaux expérimentaux.

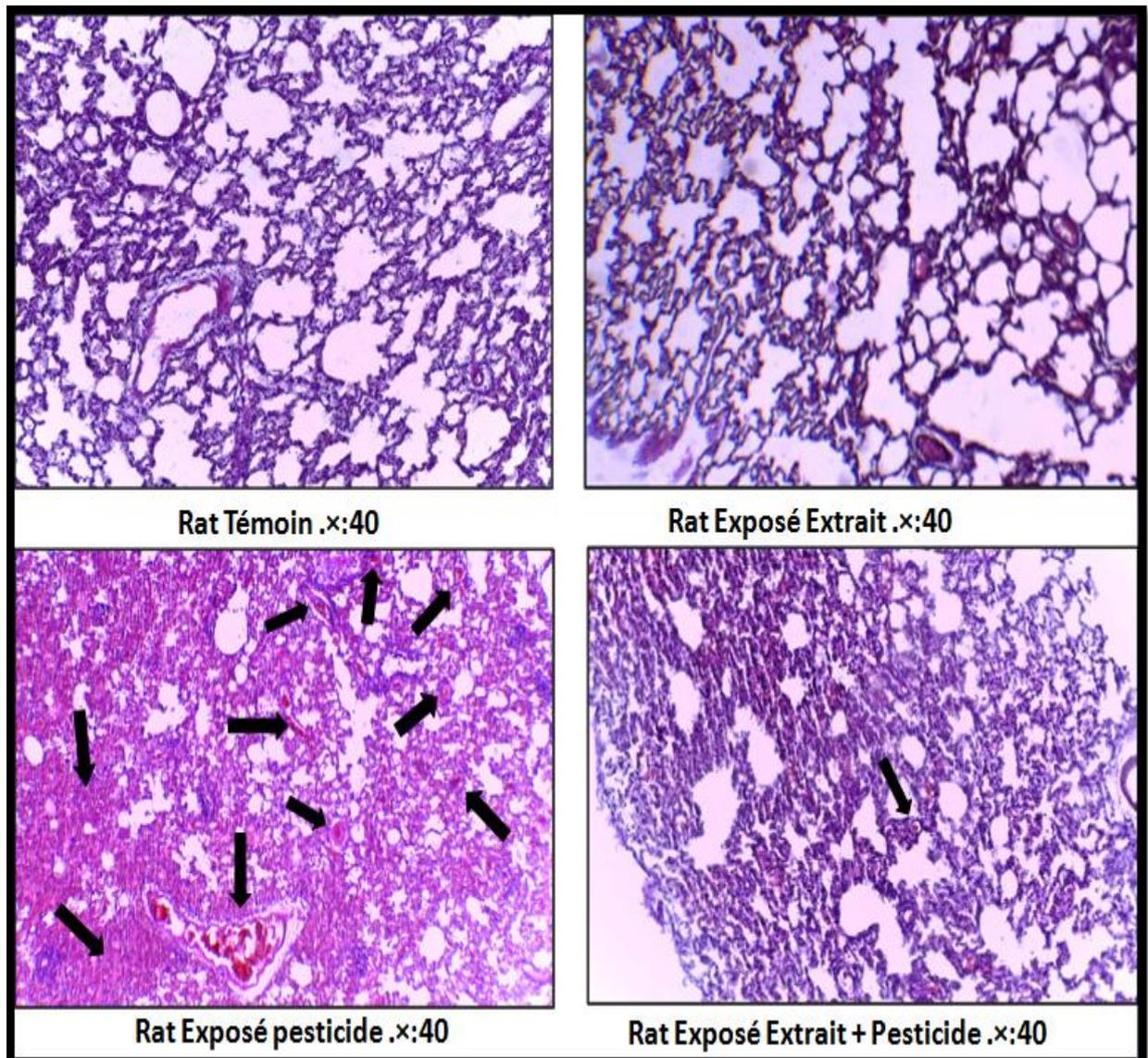


Figure 28 : Coupes histologiques (×40) dans le striatum des rats témoins et traités par la *citrillus colocynthis*(**E**), la deltamethrine (**D**), et par leurs combinaisons après 10 jours de traitement.

Les rats témoins(T)

Les résultats obtenus montrent que le parenchyme pulmonaire fait des alvéoles de morphologie normale et des branches présente de structure vasculaire (**figure28**).

Les rats traités par le extrais (E)

Cette figure montrent que le parenchyme pulmonaire fait des alvéoles et des branches avec présence de structure vasculaire ; on observe une discrète dilatation des branches avec de conjonction des alvéoles et on a trouvé des signes de conjonction vasculaire et infiltration lymphocytaire inflammatoire mini ; en comparaison au témoin (**figure 28**).

Les rats Exposé au pesticide(D)

les résultats montrent que le parenchyme pulmonaire fait des alvéoles et des branches avec présence de structure vasculaire; on observe une présence d'une alvéolite hémorragie (cellules inflammatoire) remmener dont les alvéoles sont œdémateuse et émonde par l'hémorragie et aussi infiltration lymphocytaire inflammatoire d'intensité faible à modéré âpre par endroit dénonce mononuclée groupée en agrégat et présence de conjonction vasculaire; par rapport au témoin(**figure28**).

Les rats Exposé à la mixture pesticide et le extrais (ED)

L'image de (**fig.28**) montrent que le parenchyme pulmonaire fait des alvéoles et des branches avec présence de structure vasculaire ; on observe une discrète hémorragie et aussi conjonction vasculaire ; en comparaison avec le groupe témoin (**figure 28**).

Discussion

3. Discussion

Le stress oxydant n'est pas une maladie mais il crée les conditions de la maladie ou les accélère. Le diagnostic et le suivi ont donc une importance fondamentale dans le cadre de la médecine préventive, de la santé, du suivi des traitements et des pathologies (Bobali, 1991). L'implication du stress oxydatif dans le développement de nombreuses pathologies et dans le processus de vieillissement est largement documentée dans la littérature scientifique. Un certain engouement a pu faire penser que les antioxydants pouvaient être la solution pour traiter et prévenir les maladies les plus graves, et bien vieillir. La prise empirique de certains antioxydants sur le long terme apparaît de plus en plus discutable. D'où l'intérêt grandissant pour la recherche de marqueurs du stress oxydatif (Bobali, 1991).

Dans ce travail, Nous avons étudiée les effets toxiques de déltamethrine sur le système pulmonaire ainsi que l'effet protecteur de la *citrullus colocynthis* contre la toxicité de ce xénobiotique ont été mise en l'évidence par l'investigation des paramètres métaboliques, paramètres enzymatiques, non enzymatique et les paramètres de croissance. Dans cette étude nous a permis d'illustrer la relation entre l'exposition au ce pesticide deltamethrine et les effets toxiques qu'ils induisent de côté, et l'effet préventif et curative d'un extrait d'une plante médicinale d'autre coté.

3.1. Effets de deltamethrine et *citrullus colocynthis* sur les paramètres de la croissance

Le suivi de la masse corporelle chez les souris traitées par le pesticide deltamethrine (DM) et l'Extrais de plant *citrullus colocynthis* L montre une baisse de poids corporel et de gain de poids chez les lots traités par Deltamethrine comparativement aux lots témoins. Ce résultat est en accord avec plusieurs études ou le même effet a été noté chez les animaux de laboratoire (Emara et Draz, 2007 ; Zhang et al, 2008).

La réduction du taux de gain de poids corporel est utilisée comme indicateur de toxicité et de détérioration de l'état de santé générale des rats. La baisse du gain du poids corporel peut être le résultat également 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 et Harve, 2011 ; Viviana, 2015). En ce qui concerne l'effet sur le poids relatif du poumon, nous avons remarqué une augmentation très hautement significative. Cela peut être expliqué, d'une part, par l'hypertrophie tissulaire de cet organe causée par déltamethrine et d'autre part par l'accumulation intense du pesticide lui-même

dans cet organe cible (**Kehili, 2017**) ont obtenu les mêmes résultats en étudiant la toxicité du cadmium sur plusieurs organes.

Par ailleurs, la capacité de l'extrait de *Citrullus colocynthis* à préserver de ces paramètres pondéraux des animaux. Ceci pourrait être la conséquence de son pouvoir antioxydant (Cette plante contient de nombreux antioxydants) selon (**Soufane, 2018**).

3.2. Effets de deltaméthrine et *Citrullus colocynthis* sur le statut redox

- **Effet sur le taux de Glutathion (GSH)**

Le glutathion réduit (GSH) est un tri peptide (Glu-Cys-Gly) contient un groupe thiol nucléophile qui réagit facilement avec des xénobiotiques alcalines (**Tremblay, 2018**). Il joue un rôle de détoxification des substances endogènes ou xénobiotiques et protège les cellules contre un stress oxydant. Nos résultats mettent en évidence une diminution du taux des GSH pulmonaire après une exposition à la déltaméthrine. Cette diminution est une réponse au stress oxydatif provoqué par déltaméthrine (**Kumar et al, 2017**). Le glutathion réduit (GSH), réduit le peroxyde d'hydrogène et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la glutathion peroxydase (GPx) (**Garait, 2006**). La diminution du taux de GSH indique que l'organisme du rat mets en place le système de défense antioxydant (**Grara et al, 2012 ; Kehili et al, 2017**).

- **Effet sur le taux glutathion-s-transférase (GST)**

La GST est une enzyme ayant un rôle important dans la désintoxication des xénobiotiques et la protection contre les métabolites nocifs générés après la dégradation des macromolécules (**Aouacheri et al, 2009**). D'après nos résultats on observe une augmentation hautement significative de la GST dans les tissus étudiés (poumon) chez le lot DM par rapport aux autres lots de traitement, Nos résultats sont cohérents avec l'étude (**Kehili et al, 2017**). L'augmentation de l'activité de cette enzyme est une réponse physiologique pour compenser les dommages qui sont dus aux radicaux libres (**Boussekine, 2014**).

- **Effet sur le taux glutathion peroxydase (GPx)**

La GPx est l'un des systèmes de défense antioxydant très puissant, il réduit l'H₂O₂ en H₂O et protège l'organisme contre l'effet cancéreux de cette substance (**Zhu et al, 2010**). Les

résultats obtenus ont révélé que les rats traités par déltamethrine sont subissent à diminution significative de l'activité de GPx, ces résultats en accord avec les travaux de (Gasmî et al, 2017). La diminution observée de l'activité de GPx dans les tissus des poumons suivant le traitement par deltamethrine pourrait être à cause de leur action indirecte à réduire les niveaux des espèces réactives d'oxygène, ce qui peut réduire le stress oxydant, Cela correspond à un travail (Kehili et al, 2017) sur la toxicité causée par un xénobiotique.

- **Effet sur le taux malondialdéhyde (MDA)**

La toxicité du DM étudiée était une cause de taux très hautement significative de MDA qui est l'aldéhyde actif principal de la peroxydation de l'acide gras polyinsaturé des membranes selon cette étude (Maiza et al, 2011). Les ERO peuvent oxyder les lipides (Ercal et al, 2001 ; Tweeddale, 2007). La peroxydation lipidique est suivie la désintégration de la membrane cellulaire biologiques (Fetoui et al, 2009 ; Bebianno et al, 2005) ou d'autres éléments contenant des lipides (Al-mutairi, 2007). Il s'ensuit une perte de la perméabilité et du potentiel de membrane, une inactivation des récepteurs et des enzymes membranaires (Pampanin, 2005). Ces perturbations fonctionnelles peuvent aboutir à la mort des cellules. Ainsi, la peroxydation lipidique est une source endogène des dommages de l'ADN (Marnett, 2002). D'autre part les études de (Harris, 1992) montrent une surproduction du MDA chez les vers de terres traitées par l'oxyde de zinc et l'oxyde de titane (0.1, 0.5, 1 et 5 µg/g).

Pour la majorité des paramètres étudiés, un apport en extrait d'écorce de *citrullus colocynthis* chez les rats traitées par le pesticide étudiées a amélioré le statut Redox des animaux en rétablissant un certain équilibre des métabolites primaires (MDA) mais aussi des biomarqueurs enzymatiques (GPx, GST) et non-enzymatiques explorés (GSH). Ceci peut être expliqué par la richesse le *citrullus colocynthis* en polyphénols (Soufane, 2018), molécules dotées d'un immense pouvoir anti-oxydant (Macheix et al, 2005), dû essentiellement à la présence des fonctions hydroxyle sur le noyau benzène de ces composés phénoliques. Les polyphénols qui sont des molécules exclusivement d'origine végétale sont à la bases de la conception de la plupart des préparations médicamenteuses et ce aux vertus de leurs activités biologiques diverses (Macheix et al, 2005). Dans notre étude ils ont démontré un fort pouvoir thérapeutique contre l'intoxication au produit phytosanitaire à savoir la deltamethrin.

3.3. Effets de Deltamethrine et *Citrullus colocynthis* sur les protéines

Nos résultats montrent une diminution hautement significative dans les paramètres métaboliques chez les rats traitée par le pesticide DM par rapport lot témoin. Le taux de

protéine diminuée est expliqué en l'occurrence par une dénaturation protéique mais aussi par la diminution de la synthèse des protéines due à l'atteinte au système transcription-traduction au niveau cellulaire. Une autre explication serait l'utilisation excessive des molécules protéiques impliquées dans la défense anti-oxydante contre les ROS libérées suite à la consommation des différents xénobiotiques (**Najib et al, 2010**). Les protéines oxydées sont généralement détruites par les cellules comme mécanisme de défense. Ce mécanisme est orchestré par les protéasomes et quelques protéases des lysosomes (**Bobali, 1991**).

En revanche, selon les résultats obtenus et ce que nous avons observés chez le lot traité par mixture (pesticide et le plante) lors de l'utilisation de la *citrullus colocynthis* comme étant molécule cytoprotectrice il s'avère que ce composé phénolique a bien amélioré l'homéostasie de paramètre biochimique étudié dans ce présent travail (les protéines). Ce pouvoir préventif pourrait être attribué aux caractères moléculaires antioxydant de ce polyphénol à travers le groupement cathéchol, les liens insaturés du noyau C, la fonction 4-oxo et les groupes à affinité chélatrice des métaux qui caractérisent ce composé (**Leclerc, 2012**). Ces résultats sont en accord avec de nombreuses études sur ce polyphénol (**Williams et al, 2004 ; Lahouel et al, 2016 ; Lee et al, 2016**).

3.4. Effets de traitement sur l'histologique du tissu pulmonaire

L'exposition aux pesticides peut provoquer des effets néfastes sur la santé et sur les différents organes ou tissus, incluant le tractus respiratoire et les poumons. Nos résultats ont révélé des altérations dans la structure histologique des poumons caractérisées par des congestions vasculaires, des infiltrats de cellules inflammatoires, épaissement des parois vasculaires, des hémorragies intra alvéolaires et une hyperplasie du revêtement alvéolaire ce qui entraîne une réduction de la lumière des alvéoles. Nos résultats sont similaires aux résultats de cette étude (**Mairif, 2015**). Ces altérations sont accompagnées par une augmentation du poids relatif des poumons. Il a été remarqué que le traitement par déltaméthrine par voie orale, entraînait des altérations histologiques des poumons chez les rates traité. Où nous remarquons une diminution du diamètre alvéolaire, une inflammation attestée par la présence de cellules inflammatoires avec une nécrose cellulaire, Nos résultats sont similaires aux résultats de cette étude (**Mestaghanmi et al, 2014**). En outre, une étude a montré que l'exposition au HCB a induit des lésions inflammatoires pulmonaires avec accumulations des macrophages alvéolaires et une prolifération de l'endothélium des vaisseaux pulmonaires, auxquelles ont assisté un infiltrat périvasculaire composé de granulocytes éosinophiles et des monocytes

(**Michielsen et al., 1997 ; Michielsen et al., 1999**).Egalement, une augmentation du poids des poumons a été observée chez des rats et cobayes exposés par inhalation à 6,1mg d'Al/m³ (sous forme de chlorhydrate d'aluminium) à raison de 6h/j, 5j/semaine pendant 2 ans (**Stone et al., 1979**).aussi dans cette étude(**Grassina et al., 2011**), l'utilisation de bang de cannabis entraîne une intoxication pulmonaire et d'hémorragie alvéolaire.

Dans cette même étude, il a également été constaté que *citrullus colocynthis* jouait un rôle important dans la protection des tissus pulmonaire où il bien contribuer au remodelage des tissus endommagés par l'inflammation et l'hémorragie alvéolaire qui provoquer par le pesticide étudié.

Conclusion

et

Perspective

L'exposition aux pesticides et autres polluants a ravivé la préoccupation des toxines environnementales avec les problèmes de santé associés aux pesticides, et leur potentiel de toxicité importante qui peut éventuellement conduire à un certain nombre de maladies. Ces maladies sont le résultat d'un ensemble complexe de mécanismes à partir desquels nous trouvons le "stress oxydatif", c'est-à-dire un déséquilibre entre la production de types réactifs (radicaux libres) et les mécanismes de défense et de détoxification de ceux-ci, ce qui a conduit à cette étude.

Cette présente étude traite l'effet de deltaméthrine sur quelques paramètres biochimiques des poumons tels que les protéines également sur les paramètres de stress oxydatif (GPx, MDA, GST et GSH), et aussi nous avons évalué l'effet protecteur de *Citrullus colocynthis* contre cette toxicité.

Le travail que nous avons mené est consacré à l'étude de l'effet de la pneumotoxicité chez le rat de ce pesticide nouvellement introduit en Algérie à savoir la deltaméthrine et l'effet préventif d'un *Citrullus colocynthis* sur cette toxicité. À la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que :

- Dans les conditions de la toxicité subaiguë chez les rats traités à la dose de 0,32mg/kg/j par voie orale pendant 10 jours.
- Aussi l'exposition au DM pendant 10 jours peut altérer le métabolisme protéique, processus accompagné par un déficit pondéral remarquable (le poids, le poids relatif et le gain de poids).
- Le pesticide (DM) peut provoquer également des altérations dans le bilan de stress oxydatif qui traduit par une perturbation de taux de GSH et MDA, l'activité de GPx, GST, de poumon en globale.
- En ce qui concerne les tests histologiques ont révélé des altérations dans la structure histologique des poumons caractérisées par des congestions vasculaires, des infiltrats de cellules inflammatoires, épaississement des parois vasculaires, des hémorragies intra-alvéolaires et une hyperplasie du revêtement alvéolaire ce qui entraîne une réduction de la lumière des alvéoles.
- L'administration de *Citrullus colocynthis* à dose de 200mg/kg/j pendant 10 jours aux rats traités par la DM a rétabli toutes les valeurs à la normale, ce qui traduit l'effet protecteur de *Citrullus colocynthis* sur la fonction pulmonaire.

- La *Citrullus colocynthis* a protégé le tissu pulmonaire contre les effets pneumotoxiques de pesticide (DM).

Enfin en perspectives, il sera souhaitable de développer cette recherche par :

Déterminer les effets de métabolites finals de la DM sur l'organisme après une exposition dans les mêmes conditions expérimentales, et Déterminer une dose spécifique et plus efficace de la *Citrullus colocynthis*, capable d'être utilisée comme antidotes spécifiques contre les différents types d'intoxication.

Référence

Bibliographique

A

- **Abuja PM., Albertini R., 2001.** Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta.* 306: 1-17p.
- **Ademe., 2004.** Polluants Organiques Persistants.
<http://www.ademe.fr/entreprises/polluant.asp?ID=49>.
- **Al-Attar AM et Al-Taisan WA., 2010.** Preventive Effects of Black Seed (*Nigella Sativa*) Extract on Sprague Dawley Rats Exposed to Diazinon. *Aust. J. Basic. And. Appl. Sci.* 4(5): 957-968.
- **Alavanja MC., Hoppin JA., Kamel F, 2004.** Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity. *Annuel. Revue. Public. Health.* 25:155-197.
- **Al-Mutairi D., Craik J., Batinic H., Benov L. 2007.** Induction of oxidative cell damage by photo - treatment with zincs Meta N-methylpyridylporphyrin. *Free radical research.* 41: 89-96.
- **Andre Dias S., 2017.** Reponse des cellules epitheliales pulmonaires a l'exposition au perfluorocarbone dans le contexte des applications de la ventilation liquide totale. Thèse de doctorat en Biologie cellulaire et moléculaire.
- **Angely C., 2018.** Propriétés mécaniques et fonctionnelles des cellules épithéliales respiratoires exposées à une toxine bactérienne : l'adénylate cyclase. Thèse de doctorat l'Université Paris Est. 22- 23p
- **Aouacheri W., Saka S., Djafer R., Lefranc G., 2009.** Effet protecteur du diclofénac contre le stress oxydatif induit par la toxicité du paracétamol chez le rat. *Ann Biol Clin.* 67 (6): 619-27. 621
- **Ayad-mokhtari N., 2012.** Identification et dosage des pesticides dans l'agriculture et les problèmes d'environnement liés, diplôme magister .Université d'Oran. 15p.

B

- **Barouki R., 2006.** Stress oxydant et vieillissement. *Medecine/sciences.* 22(3) : 266-272.
- **Bazzi LH., 2010.** Etude de la persistance de quelques pesticides dans la culture du haricot vert dans la région de Sous Massa. Thèse de doctorat en science, Spécialité environnement Université Ibn Zohr. Ecole nationale des sciences appliquées, Agadir, 139 p.

- **Beausir A., Kim I, Séguy. D, Michaud. L, Lannoy. D, 2011.** Les micronutriments en nutrition parentérale. *Le Moniteur Hospitalier* 238: 15-28
- **Bebianno M., Company R., Serafim A., Cosson R.P., Fiala-Medoni A. 2005.** Antioxidant systems and lipid peroxidation in *Bathy-modiolusazoricus* from Mid-Atlantic Ridge hydrothermal vent fields. *Aquat. Toxicol.* 75. 354-373.
- **Belhaouchet N., 2014** .Evaluation de la toxicité du Spinosad « insecticide nouvellement introduit en Algérie » sur un modèle expérimental bioindicateur de la pollution « *Helix aspersa* ». Thèse Doctorat LMD. Université Badji Mokhtar-Annaba. 17-82.
- **Bobali Z., 1991.** Biomarqueurs du stress oxydatif. Thèse Doctorat .Université Mohammed V-Rabat. 85 et 111p
- **Bouhraoua.Imane et Meziane.Nadjet, 2018.** Cancer bronchique primitif Profil épidémiologique au sein du service de pneumologie CHU de Bejaia. Diplôme de docteur en médecine. Université Bejaia.5p.
- **Bourgoin F., 2012.** la contribution du stress oxydatif et de médiateurs inflammatoires dans les complications vasculaires, métaboliques et moléculaires induites chez le rat soumis à une alimentation riche en gras et en sucre, un modèle de résistance à l'insuline. Thèse Doctorat. Université Laval Québec. 45p
- **Boussekine S., 2014.** Contribution a l'étude de l'effet du sélénium sur le mécanisme biochimique chez le diabète experimental. Thèse Doctorat. Université Badji Mokhtar. 75p.

C

- **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. 522p.
- **Corsini E., Codecà I., Mangiaratti S., Birindelli S., Minoia C., Turci R. Et al ; 2007.** Immunomodulatory effects of the herbicide propanil on cytokine production in humans: In vivo and in vitro exposure. *Toxicol.Appl.Pharmacol.* 222: 202-210p.
- **Couto N., Malys N., Gaskell S., and Barber J., 2013.** Partition and Turnover of Glutathione Reductase from *Saccharomyces cerevisiae*: a Proteomic Approach. *Journal of Proteome Research.* 12 (6) : 2885–94.

D

- **Dekali S, 2013.** Développement de modèles in vitro de la barrière alvéolo-capillaire pour l'étude de la toxicité et du passage des nanoparticules .Thèse de doctorat, Paris 5.
- **Djeffal A., 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 de doctorat en science, spécialité Biochimie et Microbiologie Appliquées, Université Badji Mokhtar-Annaba, 4 p.
- **Duprat A., 2006.** Méthodologie des essais de toxicité par inhalation chez le chien étude bibliographique.Thèse de doctorat. L'Université Paul-Sabatier de Toulouse. 27-28p.
- **Durackova Z, Djrolo. F., Houngbe H., Avode G., Attoulou V., Addra B., Kodjoh N., Avimadj M., 2008.** Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress. Mitochondrial medicine. Gvozdjakova A (Ed). 19-43p.

E

- **Elbakouri H., 2006.** Développement de nouvelles techniques de détermination des pesticides et contribution à la réduction de leur impact sur les eaux par utilisation des Substances Organiques Naturelles (S.O.N.), Spécialité Génie chimique et Chimie de l'environnement, Université Abdelmalek Essaadi , Tanger,10 p.
- **Emara. A; Draz. E, (2007).** Immunotoxicological study of one of the most common overthe-counter pyrethroid insecticide products in Egypt. Inhalation Toxicology 19(12): 9971009.
- **Ercal N., Gurer-Orhan H., Aykin-Burns N., 2001.** Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. Current topics in medicinal chemistry. 1: 529-39.
- **Evans WJ., 2000.** Vitamin E, vitamin C, and exercise. Am J. Clin Nutr 72: 647S-65.
- Fang YZ. , Yang S. & Wu G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. Nutrition, 18:872– 879.

F

- **FAO, OMS, 2007.** Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization, report of the joint meeting of the FAO-WHO on Pesticide Residues in Food.
- **FAO/OMS, 1991.** Résidus de pesticide dans les produits alimentaires. Genève, Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture ; 129p.
- **Favier A., 2003.** Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. 111
- **Fetoui H., Makni M., Garoui ELM., Zeghal N., 2010.** Toxic effects of lambda cyhalothrin, a synthetic pyrethroid pesticide, on the rat kidney: Involvement of oxidative stress and protective role of ascorbic acid. Experimental and toxicologic pathology. 593-599.
- **Fillatre Y., 2011.** Produits phytosanitaires. Développement d'une méthode d'analyse multi résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. Thèse de doctorat, spécialité chimie analytique Université ANGERS, 267 p.

G

- **Galmèse J., 2013.** Isolement et caractérisation de nouvelles espèces de Torque Teno Mini Virus (TTMV) : Implication potentielle dans la pathogenèse de la pneumonie. Thèse doctorat. 165p
- **Garait B. 2006.** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie). Thèse Doctorat. Université Joseph Fourier. Grenoble. France. 4-99p.
- **Gasmi S., 2018.** Neurotoxicité de deux pesticides (Acetamipride et Deltamethrine) et la prévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat. Thèse Doctorat. Université de Tébessa. 36-37p
- **Gasmi S., Rouabhi R., Kebieche M., Boussekine S., Salmi A., Toualbia N., Taib CH., Bouteraa Z., Chenikher H., Henine S., Djabri B., 2017.** Effects of Deltamethrin on striatum and hippocampus mitochondrial integrity and the protective role of Quercetin in rats. 18p.
- **Grara N., Boucenna M., Atailia A., Berrebbah H., Djebar MR., 2012.** Stress oxydatif des poussières métalliques du complexe sidérurgique d'Annaba (Nord-Est algérien) chez l'escargot *Helix aspersa*. Environ Risque Sante. 226

- **Grassin F., André M., Rallec B., Combes E., Vinsonneau U., paleiron, 2011.** Hémorragie alvéolaire fatale après bang de cannabis. Revue maladies respiratoires. Elsevier masson France. 919-923.
- **Guillouty A., 2016.** Plantes médicinales et antioxydants. Université Toulouse III Paul Sabatier. 11-12p.

H

- **Haddadi H., Shirani M., 2014.** Simultaneous Determinations of Deltamethrin and Permethrin in Water Samples Using Homogeneous Liquid-Liquid Micro extraction via Flotation Assistance and GC FID.
- **Harris E. 1992.** Regulation of antioxidant enzymes. *Faseb, J* 6. 2675-83.
- **Hermat M., 2014.** Exposition aux pyréthrinides en population générale adulte : mise en place d'une méthode d'évaluation des expositions externes en vue de la caractérisation des risques. Mémoire de l'Ecole des Hautes Etudes en santé Publique. 4p.
- **Housset P., Dickmann R., (2009).** A promise fulfilled – pyrethroid development and the benefits for agriculture and human health. *Bayer CropScience Journal*, 62(2) :135-143p.

I

- **Inserm, 2013.** (Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale) Expertise collective. Pesticides, effets sur la santé. Disponible sur <http://editions.inserm.fr/zh5/109743>.
- **Inspq, 2005.** Centre de presse. Page consultée en ligne le 2011-02-22, au : <http://www.inspq.qc.ca/CentrePresse/communiques.asp?NoCommunique=71&E=cp&Submit=1>

K

- **Karray M. (2013).** Bioconversion enzymatique des composés phénoliques des effluents issus de l'extraction d'huile d'olive : une voie prometteuse de valorisation par la production de l'hydroxy tyrosol naturel. [https:// www. Mémoire online. com/01 /14/8685/ html](https://www.Memoireonline.com/01/14/8685/html).
- **Kehili N., 2018.** L'effet protecteur d'un antioxydant naturel contre le stress oxydatif induit par le chlorure de cadmium. Thèse de doctorat. Université Badji-mokhtar Annaba. 4p

- **Kehili. N, Saka. S, Aouacheri. O, 2017.** L'effet phytoprotecteur de la nigelle (*Nigella sativa*) contre la toxicité induite par le cadmium chez les rats. *Phytotherapie*. 6 -7-8
[.https://www.researchgate.net/publication/327422312](https://www.researchgate.net/publication/327422312)
- **Kumar A., Sasmal D & Sharma N., 2017.** Mechanism of deltamethrin induced thymic and splenic toxicity in mice and its protection by piperine and curcumin: in vivo study. *Drug and Chemical Toxicology*. 8
<http://dx.doi.org/10.1080/01480545.2017.1286352>

L

- **Lahouel A., Kebieche M, Lakroun Z., Rouabhi R., Fetoui H., Chtourou Y., Zama D., Soulimani R., 2016.** Neurobehavioral deficits and brain oxidative stress induced by chronic low dose exposure of persistent organic pollutants mixture in adult female rat. *Environmental Science and Pollution Research*. Doi : 10.1007/s11356-016-6913-9
- **Leclerc PL., 2012.** Elaboration de nanoparticules de protéines de lactosérum comme système d'administration de quercétine en système gastro-intestinal. Thèse doctorat en Sciences et technologie des aliments (Ph.D.) Université Laval Québec. 12-44, 57-110
- **Lee J., Koo N., Min DB., 2004.** Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutraceuticals. *Food Science and Food Safety* 3: 21-33
- **Loret T., 2017.** capacité de modèles *in vitro* de complexité différente à prédire les réponses toxiques pulmonaires observées *in vivo* après exposition aiguë à des nanoparticules de TiO_2 et de CeO_2 . Thèse présentée pour l'obtention du grade de docteur de l'université de technologie de Compiègne. 36p.

M

- **Macheix JJ., Fleuriet A., & Jay-allemant C, 2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, première édition, presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne bio ed. 54-65.
- **Mairif. S, 2015.** Contribution à l'étude de l'effet toxique des pesticides à usage domestique utilisés en Algérie. Thèse Doctorat. Université 8 mai 1945-GUELMA. 82 et 95p.
- **Maiza A., Kilani-morakchi S., Rehamnia F., Bensbaa F., et ARIBI N., 2011.** Activité d'un biopesticide, le spinosad, chez *blattella germanica* : effets sur divers biomarqueurs (ldh, gsh, mda). 199-200p.
<https://www.researchgate.net/publication/264549277>

- **Mansouri. A, 2014.** Détermination du taux des oligoéléments sélénium et zinc dans le cheveu des patients atteints par le psoriasis au moyen de la spectrométrie par fluorescence X et de l'activation neutronique instrumentale. Thèse Doctorat. Université Ferhat Abbas - Sétif (1). 11-12 p.
- **Marek B., Jolanta F., Monika K., Maciej T., 2013.** Pesticides. Encyclopedia of environmental management.
- **Marnett L, 2002.** Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. Toxicology. 181-222p.
- **Merhi M., 2008.** Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin, Thèse Doctorat, Université de Toulouse, France. 140 p.
- **Mestaghanmi H., Elamrani S., M'touguy I. Et Saile R, 2014.** Le placenta murin : barrière efficace contre différents toxiques, dont l'aluminium .Effets du chlorure d'aluminium sur la structure histologique des poumons, reins et intestin des rats femelles gestantes et leurs foetus. La Gazette du laboratoire ; 82 : 4-5.
- **Mette. M, Berger, 2003.** Les oligoéléments – Quoi de neuf ? Forum Med Suisse 31, 720 -726p.
- **Michielsen CCPPC., Loveren HV Et Vos JG., 1999.** The Role of the Immune System in Hexachlorobenzene-Induced Toxicity Environ.Health.Perspect. 107(5) :783-792.
- **Michielsen CPPC., Bloksma N., Ultee A., Van Mil F., Vos JG., 1997.** Hexachlorobenzene-induced immunomodulation and skin and lung lesions: A comparison between Brown Norway, Lewis, and Wistar rats. Toxicol.Appl. Pharmacol ; 144: 12-26.
- **Miguel-Bouzas JC., Castro-Tubio E., Bermejo-Barrera AM., Fernandez-Gomez P., Estevez-Nunez JC., Tabernero-Duque MJ ., 2012.** Epidemiological study of acute poisoning cases treated at a Galician hospital between 2005 and 2008. Adicciones ; 24(3) :239-46.
- **Mosbah R., 2008 .**Contribution à l'étude toxicologique de l'insecticide Lors ban sur les paramètres hématologiques, biochimiques et de la reproduction chez le rat Wistar, Thèse Doctorale, Université d'Annaba, Algérie. 134p.

- **Otruán M., et Mouchel JM., 2007.** Pesticide impacts environnementaux gestion et traitement. Edition Presses Ponts et Chaussées. 333p.

P

- **Pampanin D., Camus L., Gomiero A., Marangon I., Volpato E., Nasci C. 2005.** Susceptibility to oxidative stress of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in the Venice Lagoon (Italy). 50. 154-1557.
- **Parpaleix A., 2016.** Inflammation et maladies pulmonaires : implications pour le traitement de l'hypertension artérielle pulmonaire et pour la vaccination antigrippale. Thèse de doctorat "Pathologie et Recherche Clinique". 16-17p.
- **Pinazo D., 2018.** Prise en charge de l'apnée du sommeil à l'officine. Thèse de doctorat en pharmacie. La faculté de pharmacie de marseille. 28p.
- **Powers SK. & Lennon SL., 1999.** Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. Proc Nutr Soc, 58: 1025-1033.

R

- **Raol W., 2005.** Effets des facteurs angiogéniques et des cellules progénitrices dans la répartition de la barrière alvéolo-capillaire au cours des agressions pulmonaire aiguës. Thèse doctorat. 14p
- **Rey R., 2012.** La disparition des abeilles (Colony Collapse Disorder). Etat des lieux, analyse des causes et des conséquences. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Victor Segalen – Bordeaux 2, 115p.
- **Richou-bac L et Venant A., 1985.** Une nouvelle famille d'insecticides les pyréthrinoides de synthèse. 200p
- **Rosell M., 2018.** Synthèse et évaluation de lipophénols deutérés, un nouveau concept pour réduire les stress oxydant et carbonyle dans les maladies rétinienne. Thèse Doctorat. Université de Montpellier. 39p.

S

- **Sari hassoun M., 2015.** Impact d'Extraits de Plantes du Désert Algérien sur le Cytosquelette et la Division Cellulaire. Thèse doctorat. L'université Paris-Saclay. 62p
- **Sayeed I., Parvez S., Pandey S., Bin-Hafeez B., Haque R., Raisuddin S., 2003.** Oxidative- Sims R W et Gerard B M ; 1999. Earthworms: Notes for the Identification of British Species. 53: 65-70p.
- **Soufane S., 2018.** Etude de la toxicité des fruits du *citrullus colocynthis*. Thèse Doctorat. Université Ferhat Abbas - Sétif (1). 4 et 18-21p.

- **Stone CJ., Mc Laurin DA., Steinhagen WH., Cavender FL. Et Haseman JK. 1979** .Tissu deposition patterns after chronic inhalation exposures of rats and guinea pigs to aluminium chlorhydrate. *Toxicol. Appl.Pharmacol* ; 49(1) : 71-76p.

T

- **Tomlin C.D.S., 2006.** The Pesticide Manual. 13^{ème} Edition. British Crop Protection Council. Surrey, vol.1: 697-698
- **Toumi H., 2013.** Ecotoxicité de la deltaméthrine et du malathion sur différentes souches de *Daphnia magna*. Thèse doctorat. 208p.
- **Tremblay A., 2018.** Etude in vitro de l'induction de stress oxydatif par la doxorubicine dans les cellules de sertoli immatures et les spermatogonies. Thèse Doctorat. Université du Québec. 34-35p
- **Tweeddale H., Kondo M., Gebicki J. 2007.** Proteins protect lipid membranes from oxidation by thiyl radicals. *Archives of biochemistry and biophysics*. 459. 151-8.

V

- **Viviana VL. 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: 60-66p.

W

- **Westeel, 2012.** Recommandations nationales INCa-SPLF sur le bilan initial d'un cancer du poumon, revue des maladies respiratoires.
- **Williams RJ, Spencer JPE., Rice-Evans C., 2004.** Serial review: Flavonoids and isoflavones: Absorption, metabolism and bioactivity. *Free Radical Biology and Medicine* 36 : 838-849p.

Z

- **Zerargui F., 2015.** Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis* L. et caractérisation des substances bioactives. Thèse Doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif (1). 17p.
- **Zhang J., Zhu W., Zheng Y., Yang J & Zhu X., 2008.** The antiandrogenic activity of pyrethroid pesticides cyfluthrin and beta-cyfluthrin. *Reprod Toxicol*. 25(4) :491-6.
- **Zhu Y., Chang Y., Chen Y .S. 2010.** Toxicity and bioaccumulation of TiO₂ Nanoparticle aggregates in *Daphnia magna*. 88-91p.

Annexe

Annexe



Annexe A : four



Annexe B : centrifugeuse



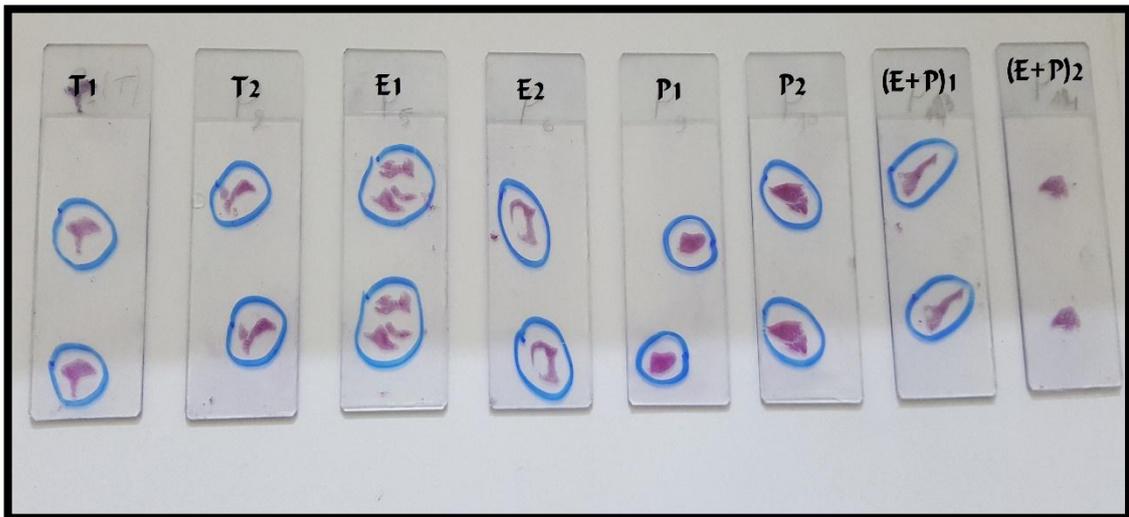
Annexe C : Balance



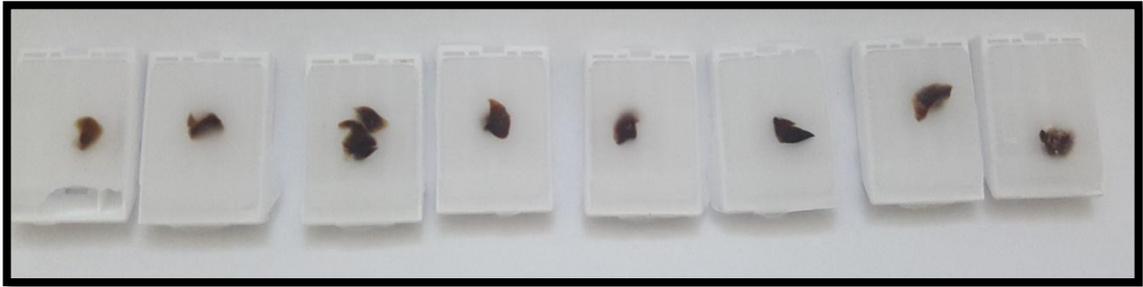
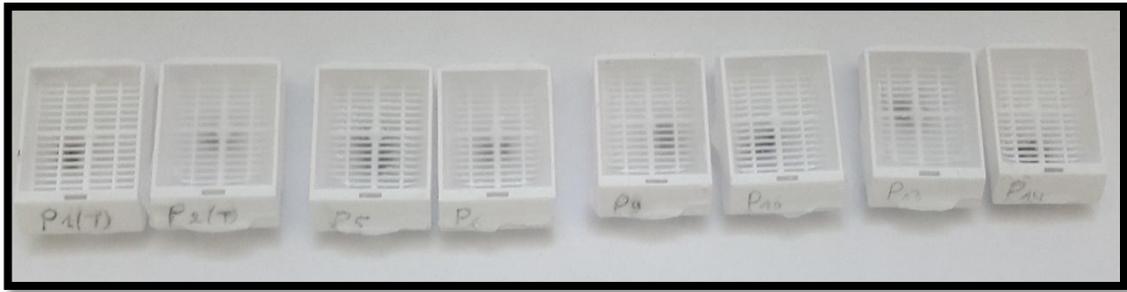
Annexe D : Spectrophotomètre



Annexe E : Agitateur



Annexe F : Les lames histologie



Annexe G : Les cassettes