



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

Intitulé:

Étude sur le stress oxydatif induit par le fenthion et l'effet protecteur de l'extrait de l'Ephedera alata chez le rat wistar.

Présenté par :

GOUCEM Zaineb

OUDIE Fatma

SARI Hakima

Devant le jury :

M ROUABHI Rachid

Pr

Université Larbi Tébessi Tébessa-

Président

Mme BOUZERAA Hayette

MCA

Université Larbi Tébessi Tébessa-

Examinatrice

Mme GUEDRI Kamilia

MCA

Université Larbi Tébessi Tébessa-

Promotrice

Date de soutenance: 12/06/2022



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

1433

Résumé

L'utilisation de pesticides à des fins agricoles ou domestiques n'est pas sans incidence négative sur la santé humaine et animale. Ces produits chimiques sont connus pour être la cause de nombreux cas d'intoxication qui peuvent conduire à l'émergence de maladies graves. Actuellement, les recherches s'orientent vers les plantes médicinales considérées comme source potentielle de multiples substances phytothérapeutiques douées d'activités anti oxydantes. Ces substances s'avèrent être l'arme la plus efficace permettant de faire face au stress oxydant et à ses dégâts nocifs au niveau des organes de l'être vivant. C'est dans ce cadre que rentre la présente étude, qui vise à étudier d'une part, les effets oxydatifs et neurobiologique induits par le fenthion, un organophosphoré puissant, chez les rats au niveau du cerveau et mettre en évidence les effets de l'extrait de la plante médicinale *Ephedra alata alenda* vis-à-vis de la toxicité de cet pesticide.

Nos résultats ont prouvé que l'exposition chronique au Fenthion (1mg/kg/j) pendant 30 jours, induit des effets délétères au niveau de l'organisme traduits par une détérioration de l'état de la santé général des rats (une réduction de poids corporel et une augmentation des poids relatifs du foie et diminution du poids relatif du cerveau), et provoque des réponses dépressive et une détérioration de l'activité exploratrice et locomotrice qui été associé au déclenchement d'un stress oxydatif cérébral révélé par la diminution de l'activité du GSH, GST, CAT et l'augmentation du taux de l'MDA. En plus, des variations hématologiques et biochimiques révélées par la perturbation du profil leucocytaire (GB, LYM, MON, EOIS) et une diminution de l'activité de l'acétylcholine cérébral et augmentation de la glycémie et du cholestérol plasmatique.

En revanche, le traitement des rats exposent au Fenthion par l'extrait de l'*Ephedra alata alenda* (300mg/kg/j) a atténué de manière remarquable les dommages induits par le pesticide en diminuant l'état du stress oxydant cérébrale, normalisant les paramètres hématologiques et biochimiques étudiés et atténuant les troubles comportementales.

L'effet préventif de l'*E. alata alenda* contre la toxicité du Fenthion est vrai semblablement attribué aux différents constituants (Falvonoides et alcaloïdes) de cette plante qui sont dotés d'une forte aptitude à neutraliser les radicaux libres et protéger le cerveau contre le stress oxydant.

Mots clés : Fenthion, *Ephedra alata alenda*, stress oxydant, comportement, rat.

Abstract

The use of pesticides for agricultural or domestic purposes is not without negative impact on human and animal health. These chemicals are known to be the cause of many cases of poisoning which can lead to the emergence of serious diseases. Currently, research is moving towards medicinal plants considered as a potential source of multiple phytotherapeutic substances endowed with antioxidant activities. These substances prove to be the most effective weapon to deal with oxidative stress and its harmful damage to the organs of living beings. It is within this framework that the present study falls, which aims to study on the one hand, the oxidative and neurobiological effects induced by fenthion, a powerful organophosphate, in rats at the level of the brain and to highlight the effects of the extract of the medicinal plant *Ephedra alata alenda* with respect to the toxicity of this pesticide.

Our results have proven that chronic exposure to Fenthion (1mg/kg/d) for 30 days induces deleterious effects on the organism expressed by a deterioration in the general state of health of the rats (a reduction in body weight and increased relative liver weights and decreased relative brain weight), and causes depressive responses and deterioration of exploratory and locomotor activity which has been associated with the onset of cerebral oxidative stress revealed by the decrease in the activity of GSH, GST, CAT and the increase in the level of MDA. In addition, hematological and biochemical variations revealed by the disturbance of the leukocyte profile (GB, LYM, MON, EOIS) and a decrease in the activity of cerebral acetylcholine and an increase in blood glycemia and plasma cholesterol.

On the other hand, the treatment of rats exposed to Fenthion with the extract of *Ephedra alata alenda* (300mg/kg/d) remarkably attenuated the damage induced by the pesticide by reducing the state of cerebral oxidative stress, normalizing the hematological and biochemical parameters studied and attenuating behavioral disorders.

The preventive effect of *E. alata alenda* against the toxicity of Fenthion is similarly attributed to the various constituents (flavonoids and alkaloids) of this plant which have a strong ability to neutralize free radicals and protect the brain against oxidative stress.

Key words: Fenthion, *Ephedra alata alenda*, oxidative stress, behavior, rat.

الملخص

لا يخلو استخدام المبيدات الحشرية للأغراض الزراعية أو المنزلية من التأثير السلبي على صحة الإنسان والحيوان ,ومن المعروف أن هذه المواد الكيميائية تسبب العديد من حالات التسمم التي يمكن أن تؤدي إلى ظهور أمراض خطيرة. في الوقت الحالي , ينتج البحث نحو النباتات الطبية التي تعتبر مصدرا محتملا للعديد من المواد العلاجية النباتية التي تتمتع بأنشطة مضادة للأكسدة . ثبت أن هذه المواد هي أكثر الأسلحة فعالية للتعامل مع الإجهاد التأكسدي و أضراره الضارة بأعضاء الكائنات الحية. ضمن هذا الإطار, تقع الدراسة الحالية التي تهدف إلى دراسة التأثيرات المؤكسدة و البيولوجية العصبية التي يسببها الفينثيون , وهو فوسفات عضوي قوي في الفئران على مستوى الدماغ . و إبراز اثار مستخلص من النبات الطبي ألعندة على سمية هذا المبيد.

لقد أثبتت نتائجنا أن التعرض المزمّن للفينثيون (1 مغ/ كغ/يوم) لمدة 30 يوما يسبب اثارا ضارة على الكائن الحي يعبر عنها تدهور الحالة الصحية العامة للفئران (انخفاض في الوزن وزيادة الوزن النسبي للكبد وانخفاض الوزن النسبي للمخ) ويسبب استجابات اكتئابية وتدهور النشاط الاستكشافي والحركي الذي ارتبط بظهور الاجهاد التأكسدي الدماغى الذي كشف عنه انخفاض نشاط مضادات الاكسدة وزيادة مستوى المألون ثنائي الادهيد بالاضافة الى ذلك تم الكشف عن الاختلافات الدموية والبيوكيميائية عن طريق اضطراب الكريات البيض وانخفاض نشاط أسيتيل كولين الدماغى وزيادة نسبة السكر و الكوليسترول في الدم .

من ناحية أخرى خففت معاملة الفئران المعرضة للفينثيون بمستخلص العنقدة (300 مجمل/كجم/د) بشكل ملحوظ من الضرر الناجم عن المبيد عن طريق الحد من حالة الاجهاد التأكسدي الدماغى. وتطبيع المعلمات الدموية والبيوكيميائية المدروسة . وتخفيف الاضطرابات السلوكية .

التأثير الوقائي لنبات العنقدة ضد سمية الفينثيون يعود الى المكونات المختلفة (الفالفونويد والقلويدات) لهذا النبات التي تتمتع بقدرة قوية على تحييد الجذور الحرة وحماية الدماغ من الاجهاد التاكسدي.

الكلمات المفتاحية: الفينثيون، العنقدة ، الاجهاد التاكسدي ، السلوك ، الجرذ.

Remerciement

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

*Nous remercions **Pr Rouabhi Rachid** d'avoir accepté d'être la présidente du jury, Nous la remercions pour son aide, son humilité et son intérêt pour ce travail*

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

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

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

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

Dédicace

En premier lieu je remercie Allah le tous puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

*Je dédie ce mémoire à **Ma mère** et **Mon père** et **ma grand-mère** de leurs soutien et l'encouragement de leurs tendresse, de leurs intérêt à ce travail je souhaite que le dieu les protège et prolonge leurs vie.*

*Mes chères frères **Ziad**, **Khalil**, qui étaient toujours présents.*

*Mes chère adorables sœurs : **laïla** et **Bouthaina** en témoignage de l'attachement de l'amour et de l'affection que je porte pour vous. et son marie **Adel** pour ses encouragement.*

*J'exprime ma reconnaissance toute particulière qui ne s'exprimera pas concrètement par rapport à mes autres frères : **salîha** , **choaîb**, **Hasna**, **Douaa**, **Atofa** pour leur aide précieuse et chaleureuse.*

Zaïneb

Dédicace

*Loué soit Dieu, qui a illuminé mon cœur et m'a guidé de sa
lumière.*

*Je dédie ce fruit de mes efforts à celle qui m'a quitté et est
partie vers les cieux avec une consolation qui aurait dû être
autour de moi, mais elle est devenue une sirène avec Dieu le
jour de ma remise des diplômes. Au pur martyr, ma mère
bien-aimée" Fatma"*

*A celui qui a été la raison de mon existence dans la vie, à la
lumière qui a illuminé mon chemin, au plus cher que j'aie
dans l'existence, à celui qui m'a appris la joie et le plaisir du
succès, à celui qui a été crédité de me faisant atteindre ce
niveau, «Cher Père» .*

*A ceux qui m'ont couru et soutenu, un par un, aux fruits de
ma mère et de mon père, mes sœurs et mes frères Un cadeau
du cœur .*

*À mes amis et collègues Surtout Houđa ,À ceux qui ont joué
un rôle en me soutenant, et a tout ce qui va entrer dans ma
vie.*

HAKIM

Dédicace

Dieu soit loué, avant tout, qui m'a aidé dans mon parcours académique et dans la réalisation de mon rêve.

Merci, gratitude et amour à mon comité et à mon monde Mes parents Houria, Ayad pour tout et pour eux ce succès, que Dieu les protège.

À mes frères et mon soutenu Dia, Qusay et Oncle

Ma petite soeur et ma fille Reham

A la deuxième mère, ma tante Tita

Pour tous les amis Fatma, Zaineb ,Hadjer, Chahinaz, Inasse, Nous, Ilhem Akila et Souhaïla, que Dieu vous bénisse pour moi.

FATMA

Table des matières

Remerciement

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction01

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralité sur les pesticides

I.1. Historique des pesticides.....04

I.2. Classification des pesticides.....04

I.3. Répartition quantitative des pesticides dans le monde.....06

I.4. Destinés des pesticides dans l'environnement07

I.5. Mode d'exposition aux pesticides08

I.6. Qui est plus particulièrement exposé aux pesticides10

I.2. Les organophosphorés

I.2.1. Définition11

I.2.2. Structure et propriétés physicochimique d'organophosphorés11

I.2.3. Mécanisme d'action des organophosphorés12

I.2.4. Toxicité des organophosphorés13

I.3. Le fenthion

I.3.1. Définition15

I.3.2. Propriétés particulières16

I.3.3. Etude toxicologie16

Chapitre II : ephedra alata

II. Les Plantes Médicinales : Les Plantes à usages thérapeutiques

II.1. Définition et Utilisation	18
II.2. Métabolites secondaires (principes actifs) des plantes médicinales	18
II.3. Les plantes médicinales en Algérie	22
II.4. Ephedra alata alenda : une espèce à pouvoir thérapeutique promoteur.....	23
II.5. Chimie de plante	27

Chapitre III : Stress oxydatif et antioxydant.

III.1. Stress oxydatif

III.1.1. Définition	30
III.1.2 les radicaux libres.....	30
III.1.2.1. Définition des Radicaux libres	30
III.1.2.2. Différentes formes des radicaux libres	31
III.1.2.3. Source des radicaux libres	32
III.1.3. Les cibles des dérivés actifs de l'oxygène	
III.1.3.1. Les protéines	34
III.1.3.2. Les lipides	34
III.1.3.3. L'ADN	34

III.2. Les antioxydants

III.2.1. Définition	35
III.2.2. Les différents types des antioxydants.....	36

Partie pratique

Matériels et méthodes	40
I. Matériels.....	40
I.1. Matériel animal	40
I.2. Matériel végétal	40
II Méthodes	

II.1. Entretien des animaux	42
II.2. Choix de la dose	43
II.3. Préparation des extraits aqueux	43
II.4. Etude comportementale	45
II.5. Prélèvements	43
II.6. Etude des Paramètres hématologiques	48
II.7. Etude des paramètres biochimiques	49
II.8. dosage de l'acétylcholinestérase cérébral	52
II.9. évaluation de paramètre du stress oxydatif	52
II.10. Analyse statistique	55
Résultats	56
Discussion	67
Références bibliographiques.	

Liste des Tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Classement des pesticides par mode d'action.	05
02	fréquences par type de pesticides utilisés durant les campagnes 2008,2009 et 2010 en Algérie.	07
03	Les principales espèces réactives.	31
04	Réactifs utilisés dans le dosage de cholestérole.	49
05	Réactifs de travail	50
06	Variation du poids relatif du foie et du cerveau chez le lot témoin et les lots traités	57
07	Variation du profil leucocytaire chez les rats témoins et traités.	58
08	Variation de la glycémie et du cholestérol chez le lot témoin et les lots traités.	60
09	Variation de l'activité cholinestérasique cérébrale chez les rats témoins et traités.	61
10	Variation du taux de l' MDA, GST, GSH et CAT cérébraux chez le lot témoin et les lots traités.	62
11	Variation des paramètres de l'OF chez le lot témoin et les lots traités.	64
12	Variation des paramètres de l' FST chez le lot témoins et les lots traités.	65

Liste des Figures

Figure	Titre	Page
01	Quantité des pesticides vendus en 2018 dans le monde.	06
02	Différents modes de contamination de l'environnement par les pesticides .	08
03	Les principales voies d'exposition aux pesticides.	10
04	Structure générale des organophosphorés.	12
05	Voies du métabolisme secondaire des plantes qui produisent les trois types généraux de composés secondaires : produits azotés, composés phénoliques et terpénoïdes. La relation avec le métabolisme primaire est également indiquée .	19
06	Classification et structure chimique des composés phénoliques.	20
07	Port général d'Ephedra alata (A) ; rameau fleurit (B) et fleur en épanouissement (C).	24
08	Distribution de l'Ephédra dans le monde.	25
09	Structure chimique de l'Elphédrine, Norephédrine , N Methylephédrine et Pseudoéphedrine.	28
10	Structure de quelque composés phénoliques de l'éphedra.	28
11	Structure des proanthocyanidines types A.1et C1.	29
12	Structure de quelques flavonoïdes contenus dans le genre Ephedra.	29
13	Le stress oxydant induit par un déséquilibre entre pro-oxydant et système antioxydant.	30
14	Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant.	31
15	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.	33
16	Les cibles biologiques du stress oxydant.	33
17	Répartition des principales défenses anti-oxydantes dans la cellule (Mn-SOD) : super-oxyde dismutase mitochondriale, (Cu/Zn-SOD).super-oxyde dismutase cytosolique, (GPx) : glutathion peroxydase, (GSH) : glutathion	36

	réduit.	
18	Structure cyclique de l'acide L-ascorbique.	37
19	Structure chimique de la vitamine E.	38
20	Structure de quelques caroténoïdes.	38
21	Structure générale des flavonoïdes.	39
22	Les animaux de l'expérimentation (photo personnel).	40
23	Photo originale de l'espèce végétale <i>Ephédra alata</i> a partir du site de prélèvement.	41
24	Site de prélèvement.	41
25	Séchage de la matière végétale.	42
26	Illustration schématique de l'expérimentation.	44
27	photographie du test d'open field.	45
28	Dispositif du test de la nage forcée.	46
29	Prélèvement du veine retro-orbitale.	47
30	Dissection et prélèvement des organes.	47
31	Un automate d'Abacus 380 à 19 paramètres.	48
32	Figure représentant le mécanisme réactionnel de l'MDA (Ligor et <i>al.</i> , 2011).	51
33	le mécanisme réactionnelle du GSH (Baker, 1990).	52
34	Variation du poids corporel chez rats témoins et les rats traites.	56
35	Variation du poids relatif du foie et du cerveau chez le lot témoin et les lots traités.	57
36	Variation du profil leucocytaire chez le lot témoins et les lots traités	59
37	Variation de la glycémie et du cholestérol chez le lot témoin et les lots traités.	60

38	Variation de l'activité cholinestérasique cérébrale chez les rats témoins et les rats traités.	61
39	Variation des GST, GSH et CAT chez le lot témoin et lots traités.	64
40	Effet du fenthion et Ephedra alata sur les paramètres de la nage forcée.	66

Liste des Abréviations

Ache : Acétylcholinestérase.

ADN: Acide désoxyribonucléique.

ANOVA: Analyse de la variance

BHT : Butylhydroxytoluène .

CAT : Catalase.

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

EDTA : Acide éthylène diamine tétracétique.

EMG : Electro-myo-graphique.

EROs: Espèces réactifs d'oxygène.

ERNs: Espèces réactif à l'azote .

F : Fenthion

FNS : La formule de numération sanguine.

FST : Forced swimming test.

GPx : Glutathions peroxydases.

GSH : Glutathion réduit.

GST: Glutathion S transférase.

HCL : Chlorure d'hydrogène (HCl)

LDL : Low density lipoproteins.

MDA:Malone-dialdehyde.

NTE:Neuropathy target esterase.

OF: Open field.

OP : Organophosphoré.

PAF : Facteur d'activation des plaquettes.

SCH : Thio choline.

SO: Stress oxydant

SOD : Super oxyde dismutase.

T: Témoin

TBA : Acide Thio barbiturique.

TCA : Acide trichloracétique.

TNB : Acide thionitrobenzoïque .

A decorative frame with a thick black border. The frame has a stepped, geometric appearance. At each of the four corners, there is a small black square containing a white, six-petaled floral or starburst motif. The word "Introduction" is centered within the frame.

Introduction

Introduction

Il existe un grand nombre d'organismes vivants nuisibles aux végétaux, aux animaux mais aussi à l'égard de l'homme et des bâtiments d'élevages et d'habitation. Beaucoup d'activités sont confrontées à ces organismes mais les activités agricoles sont probablement parmi les plus exposés et donc demandeuses de moyens de prévention et de lutte. Ces moyens sont très variés et vont des mesures prophylactiques, aux traitements chimiques généralisés en passant par des interventions mécaniques, des interventions biologiques et des traitements chimiques localisés (**Séverin, 2002**). De nombreuses substances chimiques sont ainsi utilisées, ce sont les pesticides. Leur composition et leur structure sont très variées, de sorte que leurs propriétés physiques, chimiques et biologiques le sont aussi, ce qui explique leurs multiples usages, leurs dangers, ainsi que les difficultés rencontrées pour décrire et prévoir leur devenir dans les sols (**Calvet et al., 2005**). L'usage des pesticides a considérablement augmenté au cours des dernières décennies créant un danger croissant pour la santé des populations, puisque même une exposition de faible intensité a un risque à long terme qui est plus difficile à apprécier, ceux-ci sans parler des effets à court terme qui sont de mieux en mieux connus (effets neurologiques, cancers, malformations congénitales, système immunitaire affaibli et troubles de la reproduction) (**Baldi et al., 1996 ; Tron et al., 2001**).

Ces pesticides posent un véritable problème de santé publique, pas seulement pour les utilisateurs qui sont les plus exposés, mais aussi pour la population générale. En effet, notre organisme héberge des centaines de molécules toxiques dont de très nombreux pesticides, apportés par l'eau, l'air et les aliments consommés (**Calvet, 2005**).

Les organophosphorés (OP) sont des toxiques létaux, à action systémique prédominante. En raison de leur absence d'accumulation dans l'organisme, les OP sont utilisés à large échelle depuis 1935 comme insecticides (OP) (**Saïssy et Rüttimann, 1999**). La fréquence des intoxications par les IOP est en progression constante. Selon l'OMS son incidence dans 19 pays asiatiques était évaluée en 1972 à 500 000/an avec une mortalité en 1981 à 750 000, et en 1983, à 2 000 000 avec une évolution fatale dans 40 000 cas. Aux États-Unis, sur 36 541 cas d'intoxication par insecticides/pesticides déclarés aux centres anti-poisons en 1986 (**Litovitz et al. , 1986**). Le fenthion (thiophosphate o-(méthylemercapto-4méthyl-3phényl) o,o-diméthylque) est un insecticide organophosphoré à effet rémanent mis au point par (**schrader , 1960**) ; il fait ses preuves dans la lutte contre les moustiques anophèles vecteurs du

paludisme. **(Francis et Barnes , 1962)**, le fenthion est considéré comme la méthode la plus efficace pour préserver les céréales (blé, sorgho et millet) **(Testud et Bougon , 2009)**.

Les origines du stress oxydant sont multiples, des facteurs externes (exposition prolongée aux UV, inflammation, infection) et le mode de vie (tabac, alcool, alimentation déséquilibrée, sport intense, stress, fatigue), créent un déséquilibre de la balance pro-oxydant /antioxydant. Toutefois, en raison de la concomitance entre la survenue des maladies liées au stress oxydatif, l'aggravation de la pollution, et l'utilisation accrue des pesticides à différentes fins, il était légitime de suspecter l'implication de ces polluants chimiques dans l'induction du stress oxydant. Plusieurs études cliniques et expérimentales ont montré que l'administration des pesticides peut induire un état de stress oxydant menant à différentes pathologies **(Fortin et al., 2009 ; Fetoui et al., 2010)**.

De nos jours, les perturbations causées par les produits phytosanitaires sont traitées par la médecine conventionnelle et traditionnelle, autrement appelée phytothérapie, et c'est la plus ancienne façon au monde de se soigner, on la retrouve dans toutes les civilisations, chacune d'entre elles ayant élaboré sa propre thérapeutique au fil des siècles, en proposant différentes préparations qui sont obtenus à partir de la plante fraîche ou sèche **(Braun et Cohen ; 2015 ; Laarman, 2013 ; Verbois, 2015)**. En effet, il existe environ 500.000 espèces de plantes sur terre, dont 80.000 possèdent des propriétés médicinales grâce à de nombreuses substances actives **(Benkhiguel et al, 2010)**. Parmi ces plantes on trouve l'*Ephedra alata alenda*, connue et employée en Chine depuis plus de cinq mille ans sous le nom de *Ma-Huang*, elle est très stimulante et qui tient une place importante dans la tradition herboriste de plusieurs pays. En herboristerie chinoise elle soulage les affections causées par le froid externe et un remède contre les toux et les troubles respiratoires. En herboristerie occidentale elle favorise la transpiration, dilate les bronchioles (ramification des bronches), diurétique et hypertenseur artériel. Aujourd'hui, elle est utilisée pour soigner diverses affections, coups de froid, fièvres, asthme et les poussées aiguës de rhume ou de grippe et soulage les rhumatismes **(Iserin, 2001)**. En Algérie, l'utilisation de l'*Ephedra alata alenda* est très répandue surtout dans les zones sahariennes du sud **(Halis, 2007)**.

A la lumière de ces données, l'idée de notre travail est d'étudier l'effet protecteur de cette plante sur le stress oxydant et les effets néfastes d'un perturbateur chimique le fenthion sur le plan biologique, biochimique et neurocomportemental.

Pour atteindre cet objectif, ce mémoire est divisé en deux parties:

- Une partie bibliographique dans laquelle seront rapportées certaines informations de base nécessaires pour la compréhension du travail expérimental.
- Une partie expérimentale expliquant le matériel utilisé et la méthodologie adoptée ainsi que la présentation des résultats et leur discussion.

A decorative frame with a thick black border and a white inner border. The frame is rectangular with rounded corners and features four stylized floral motifs, one in each corner. The motifs are white with black outlines, resembling six-petaled flowers or stars.

Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Généralité sur les pesticides

I. Les pesticides

I.1. Historique des pesticides

Les pesticides appelés aussi produits phytosanitaires ou produits phytopharmaceutiques sont des produits chimiques organiques ou minéraux constitués d'un ou de plusieurs substances actives et de composés supplémentaires comme les diluants ou adjuvants (**Tayade, 2013**). L'étymologie du mot pesticide provient de l'anglais « pest » qui signifie animal, insecte ou plante nuisible et du suffixe « -cide » que l'on trouve dans le verbe latin « caedo, cadere » et qui signifie « tuer ». Ce terme de pesticide regroupe donc toutes les substances destinées à lutter contre les organismes jugés indésirables.

Avant la seconde Guerre Mondiale, les pesticides employés en agriculture étaient des dérivés de composés minéraux ou de plantes : arsenic, cuivre, zinc, manganèse, plomb, pyrèthre, roténone ou sulfate de nicotine ... (**Štajn et al., 1997**). Dès le XIX^e siècle, l'essor de l'industrie chimique a conduit à l'apparition de très nombreuses molécules dites pesticides de synthèse (plus d'un millier ont été à ce jour homologuées) et à un accroissement notable de leurs usages industriels. De manière globale, au niveau mondial, la consommation de pesticides a doublé tous les dix ans entre 1945 et 1985. A cause de la croissance démographique, la nécessité d'accroître les rendements des cultures pour répondre aux besoins alimentaires accrus, ce qui incite à accroître l'utilisation des pesticides de toutes les catégories.

I.2. Classification des pesticides

I.2.1. Classement par cible

Les pesticides sont le plus souvent classés en fonction du ravageur visé (insecticides (insectes), acaricides (acariens), aphicides (pucerons), ovicides (œufs), larvicides (larves), herbicides (plantes indésirables), fongicides (champignons), molluscicides (mollusques), hélicides (escargots), rodenticides (rongeurs), taupicides (taupes), corvicides (oiseaux), termicides (termites), et les produits répulsifs (**Rousseau, 2007**).

I.2.2. Classement par groupe chimique

Les pesticides sont parfois aussi classés en fonction de leur substance active, autrement dit leur groupe chimique. On peut ainsi parler de pesticides organochlorés, de pesticides organophosphorés, de carbamates, de pyréthrinoides ou encore de triazines. Parler de

pesticides organochlorés ou organophosphorés permet de regrouper sous un même vocable des substances aux comportements et propriétés similaires (Garcia et al., 2012).

1.2.3. Classement par mode d'action

Un dernier type de classement des pesticides peut être opéré à partir du mode d'action du pesticide considéré sur l'organisme indésirable visé. Les modes d'action des pesticides sont ainsi très variés et évoluent au gré des innovations de l'industrie phytosanitaire (Bonnefoy, 2013).

Le classement par mode d'action des pesticides en herbicides, fongicides et insecticides sont bien illustré dans le tableau 01. Ils représentent les principales familles de pesticides utilisées en agriculture fruitières et légumières.

Tableau 01 : Classement des pesticides par mode d'action (Bonnefoy, 2013).

Herbicides	
De contact	Agit sur les parties de la plante avec lesquelles il entre en contact.
Systémique	Absorbé par la plante, se déplace à l'intérieur de celle-ci.
Sélectif	Ne contrôle que certaines plantes traitées.
Non sélectif	Contrôle toutes les plantes traitées.
Résiduaire	Se dégradent lentement et contrôle les plantes sur une longue période.
Non résiduaire	Est rapidement inactif après son application et ne contrôle les plantes que sur une courte période.
Fongicides	
Préventif	Protège la plante en empêchant que la maladie ne se développe.
Curatif	Réprime une maladie qui est déjà développée.
Insecticides	
De contact	Agit lorsque l'insecte entre en contact avec le produit.
D'inhalation	Agit lorsque l'insecte respire le produit.
D'ingestion	Agit lorsque l'insecte se nourrit du produit.

I.3. Répartition quantitative des pesticides dans le monde

Les quantités de pesticides utilisées dans le monde augmentent régulièrement depuis plus de soixante ans. Elles semblent diminuer dans certains pays d'Europe, mais à dose ou poids égal, les matières actives d'aujourd'hui sont généralement beaucoup plus efficaces que celles des décennies précédentes. Les molécules commercialisées évoluent, pour contourner les résistances (des insectes, champignons ou végétaux), et pour remplacer des produits interdits en raison de leur toxicité, ou quand des molécules à priori intéressantes viennent en remplacer d'autres. Le marché mondial des pesticides s'élève à 26.1 milliards euros annuels, dont près d'un tiers pour l'Europe et environ 25 % pour l'Amérique du Nord ainsi que pour l'Asie.

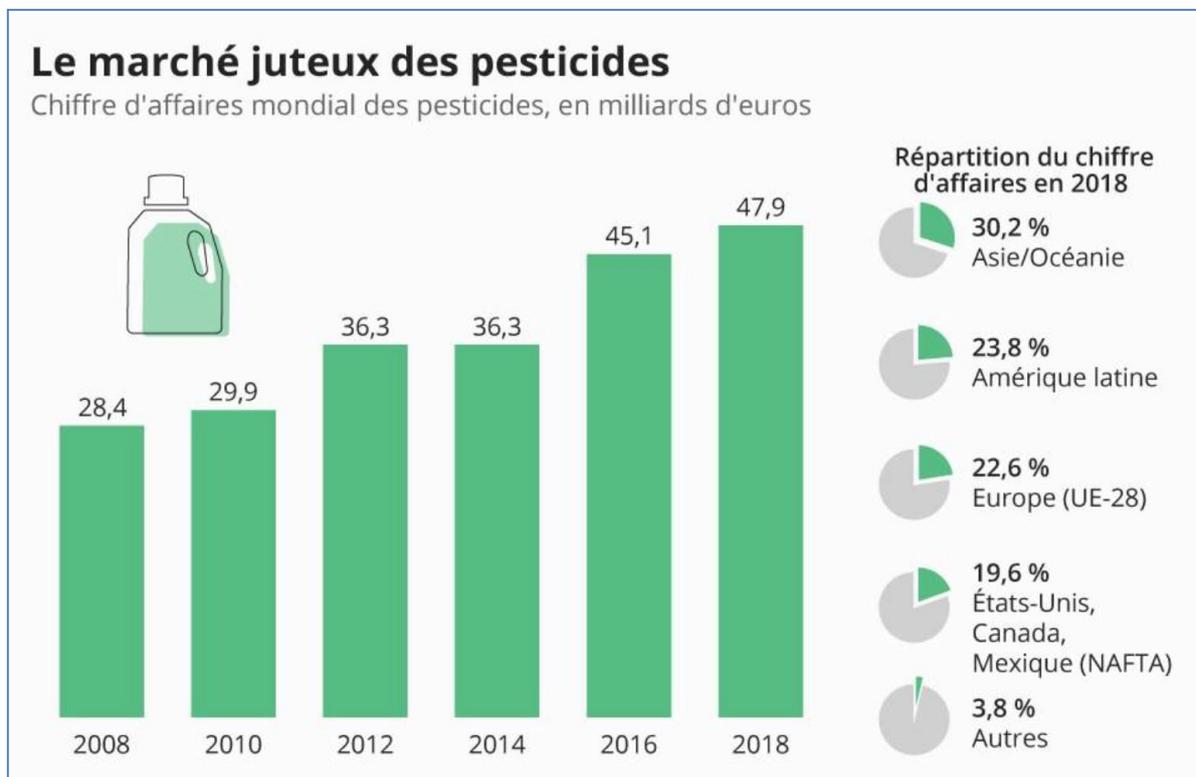


Figure 01 : Quantité des pesticides vendus en 2018 dans le monde

(<https://fr.statista.com/infographie/11599/chiffre-affaires-pesticides-produits-phytosanitaires-dans-le-monde-et-par-region/>)

En Algérie, nous avons réparti les pesticides utilisés par type de ravageurs ou de maladies ayant fait l'objet des divers traitements. Même si une diminution drastique est constatée dans le recours aux insecticides sur les 3 campagnes prospectées à travers le territoire national, ils restent néanmoins les plus utilisés, les fongicides viennent en seconde, les herbicides en troisième position et les divers en dernier (**Tableau 2**).

Tableau 2 : Fréquences par type de pesticides utilisés durant les campagnes 2008,2009 et 2010 en Algérie (Benadjal, (2012).

Pesticides	Campagne 2008	Campagne 2009	Campagne 2010
Insecticides	23	28	39
Insecticides biologiques	02	08	11
Fongicides	09	07	48
Herbicides	0	10	07
Nématocides	0	03	03
Divers	0	05	1
Total	34	81	109

I.4. Destinés des pesticides dans l'environnement

Les pesticides sont essentiellement libérés dans l'environnement sous l'effet d'activités anthropiques agricoles. Une fois dans l'environnement, certains groupes de pesticides se dégradent relativement rapidement, alors que d'autres qui persistent plus longtemps, peuvent s'y accumuler ou se transformer en contaminants. En plus de se disperser au niveau du sol par ruissellement ou percolation, les pesticides sont transportés par les précipitations et/ou par le vent. De ce fait, les pesticides ont été depuis près d'une cinquantaine d'années mis en évidence dans tous les compartiments environnementaux qui n'ont subi aucun traitement. Les pesticides et leurs dérivés pourraient être retrouvés dans les eaux de rivières, les nappes phréatiques, l'air, les eaux de pluie, mais aussi dans les fruits, les légumes, les céréales et les produits d'origine animale. Plus de 2, 5 millions de tonnes de pesticides sont appliquées chaque année sur les cultures dans le monde, dont 0,3%-0.5% seulement sont réellement efficaces sur les organismes cibles, et 99,5% de ces substances polluent directement l'environnement (Yekeen et al., 2016) Il existe plusieurs causes de contaminations par les pesticides à savoir le lessivage par des pluies entraînant les produits phytosanitaires vers les eaux superficielles et souterraines, l'usage incorrect des substances et des techniques (mauvais réglage des pulvérisateurs, doses excessives), les déversements "accidentels" (rinçage ou abandon d'emballages ayant contenu des produits phytosanitaires).

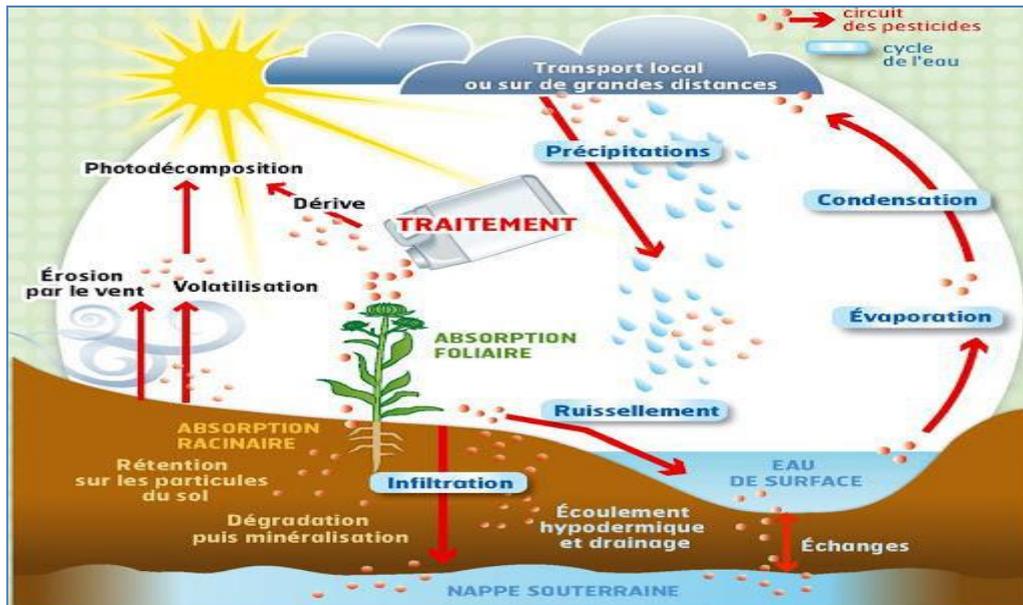


Figure 02: Différents modes de contamination de l'environnement par les pesticides.

(<http://www.lienhorticole.fr/produire/pesticides-horticoles-l-eau-l-air-et-les-sols-impactes-1,6,319215344.html>).

I.5. 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. 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. La grande variété de produits rend difficile l'évaluation des expositions des populations, qu'il s'agisse de la population exposée professionnellement (agriculteurs ou manipulateurs), ou de la population générale (Fagot et Larrat, 2002).

I.5.1. Exposition professionnelle

L'exposition professionnelle concerne essentiellement les personnes manipulant les produits, au moment de la préparation, de l'application et du nettoyage des appareils de traitement. Les agriculteurs constituent une population particulièrement exposée qui forme un groupe sentinelle pour l'observation d'éventuels effets des pesticides. L'exposition professionnelle aux pesticides des agriculteurs est très variable et complexe selon les exploitations agricoles (CPP, 2002).

1.5.2. Exposition non professionnelle

L'ensemble de la population peut être exposé aux pesticides lors des usages domestiques ou d'entretien des jardins mais surtout à des résidus de ces pesticides au travers de son environnement (eau, air, particules en suspension, poussières) et de son alimentation. Les chiffres de l'OMS indiquent que la contamination des aliments par les pesticides est la voie d'exposition de loin la plus importante. Les évaluations de risque attribuent 90% de l'exposition à l'alimentation contre 10% à l'eau (CPP, 2002 ; Commission of the European Communities, 2007).

1.5.3. Exposition de l'enfant

L'exposition de l'enfant aux pesticides peut avoir lieu très tôt, in vitro via le placenta suite à l'exposition de la mère (Saunders et al., 2004), mais également après la naissance, soit directement par exposition aux contaminations domestiques (pesticides utilisés dans la maison ou le jardin ou habiter dans une zone agricole) ou via le lait maternel (WHO, 2004; Jurewicz et al., 2006) et l'alimentation (CEC, 2002), soit indirectement pour les enfants de parents professionnellement exposés. Il est à noter que l'alimentation a été montrée comme une source d'exposition majeure des enfants aux pesticides organophosphorés (Lu et al., 2006).

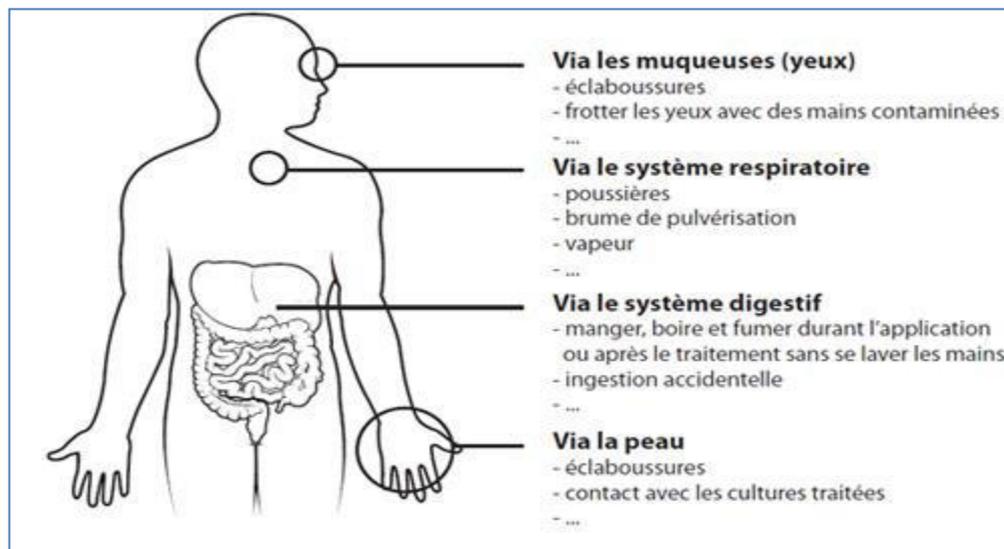


Figure 03 : Les principales voies d'exposition aux pesticides.

(<https://www.crphyto.be/agriculteurs/bonnes-pratiques/3-bonnes-pratiques-pendant-la-preparation-du-traitement>).

I.6. Qui est plus particulièrement exposé aux pesticides ?

• Les enfants

Plusieurs études concluent que les enfants sont plus vulnérables aux pesticides que les adultes, en effet les enfants sont susceptibles d'être exposés de façon plus importante aux pesticides que les adultes en raison des caractéristiques propres de leur physiologie, et absorbent d'avantages de pesticides par kilogramme de poids corporel, de plus leur comportement exploratoire les porte à voir, toucher sentir et parfois même goûter tout ce qui leur tombe des mains.

• Les agriculteurs

Les agriculteurs utilisent parfois des doses largement supérieures à ce qui était autrefois nécessaire. Certains produits sont normalement interdits, mais utilisés par dérogation. Les produits en cause sont par ordre d'importance, les fongicides (32 % des cas), les insecticides (30 %) et les herbicides (19 % des cas). 13% des agriculteurs recensés dans une banque de données spécialisée indiquent avoir été hospitalisés après une utilisation de pesticides et 27% d'entre eux ont dû avoir un arrêt de travail. L'OMS estime à 1 000 000 le nombre d'empoisonnements dans le monde et à 20 000 les décès qui s'en suivent. En septembre Partie Bibliographique 34 Impact cellulaire de Lambda-cyhalothrine chez les rats Wistar et le rôle cytoprotecteur d'une plante médicinale. 2001, environ 500 paysans qui travaillaient dans des champs de coton, en Inde, sont morts suite à une forte exposition aux pesticides et à une mauvaise protection (**Ahmad et al., 2008**).

• Les citoyens

Multiples études rétrospectives ont montré que les personnes qui habitent à proximité de vergers, traités ont un taux élevé de pesticides dans leurs urines, alors qu'ils ne sont pas allés sur les zones agricoles et n'ont pas été en contact avec les fruits traités (**Nathalie, 2010**). On peut donc en conclure que la contamination s'est effectuée par l'air, via les poumons, et/ou la peau. Sachant que les pesticides circulent dans l'atmosphère, quelle que soit la zone de résidence, il est impossible de s'y soustraire. Ainsi, par la respiration les pesticides en suspension dans l'air pénètrent dans les poumons. Même si on ne sait pas encore évaluer la part des pesticides inhalés par chacun, la présence chronique de faibles doses dans l'atmosphère concerne tout le monde (**Baldi et Lebailly, 2007**).

• Les femmes enceintes et leur fœtus

Certaines études soulèvent la possibilité qu'il y est un lien entre l'exposition des femmes enceintes, et parfois de leurs conjoints à certains pesticides d'usage courant et la survenue d'anomalies congénitales ou l'augmentation du nombre de mort-nés. Des récentes études ont

montré qu'on peut trouver des résidus de certains pesticides organochlorés dans le sperme d'utilisateur professionnel, ce qui pourrait augmenter de façon significative l'indice d'avortement spontané chez leur conjointe.

I.2. Les organophosphorés

I.2.1 Définition

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

Les organophosphorés (OP) sont des toxiques potentiellement létaux en cas d'intoxication aiguë. Ces intoxications souvent volontaires sont fréquentes, particulièrement dans les pays en voie de développement avec une fréquence avoisinant trois million d'intoxications par an dans le monde entier et une mortalité de l'ordre de 200 000 personnes par an (**Worek et al., 2005 ; Eddleston et al., 2008**).

I.2.2. Structure et Propriétés physicochimiques d'organophosphorés

Les OP représentent le groupe le plus largement utilisé. Plus de 100 composés actifs sont connus et utilisés dans plusieurs pays (**Kaloyanova et ElBatawi, 1991**). Plusieurs composés OP ont une activité à la fois insecticide et acaricide. Certains possèdent une action herbicide ou fongicide (**Matolcsy et al., 1988**). Ils ont presque tous la formule suivante (**figure 04**):

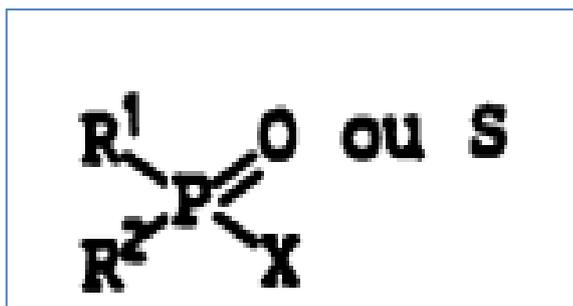


Figure 04 :Structure générale des organophosphorés

R1 et R2 sont des radicaux ALKOxy ou amino. X est un groupement complexe hydrolysable, soit aliphatique, aromatique ou hétérocyclique. C'est l'hydrolyse du groupement X suivie de la phosphorylation de l'enzyme cholinestérase qui est responsable de l'action toxique des OP (**Hassall, 1982**).

I.2.3.Mécanisme d'action des organophosphorés

I.2.1.1. Activation

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

I.2.1.2. Action sur la synapse cholinergique : inhibition des cholinestérases :

Les OP, très lipophiles, franchissent aisément toutes les barrières biologiques et se fixent de façon covalente aux cholinestérases que ce soient les acétylcholinestérases du système nerveux central, des muscles et des globules rouges ou les pseudo cholinestérases du système nerveux central et plasmatique. Même si une faible quantité franchit la barrière hémato-encéphalique, elle suffit pour inhiber en quelques secondes pratiquement toute l'activité cholinestérasique (**blanchet et al.,1991**). Il s'agit d'une véritable lésion biochimique puisque les OP viennent occuper en le phosphorylant le site estérasique de l'enzyme, s'opposant ainsi à l'hydrolyse physiologique de l'acétylcholine en choline et en acide acétique. Soixante-quinze grammes d'acétylcholine sont normalement hydrolysables en une heure par 1 mg d'enzyme (**Bismuth 1993**). La déphosphorylation de l'enzyme inhibée par l'OP est très lente, mais peut être accélérée par un réactivateur des cholinestérases ou oxime qui fait partie du traitement actuel de l'intoxication. Dans un deuxième temps, la phosphorylation devient irréversible par déalkylation (**Fleisher ; harris 1965**), c'est le phénomène « d'aging » ou vieillissement de l'enzyme qui d'une part n'est plus fonctionnelle et qui d'autre part, n'est pas réactivable. Dans ce cas, c'est la synthèse de nouvelles cholinestérases qui permettra le retour à une activité fonctionnelle normale. Cette difficulté, voire impossibilité de réactivation des cholinestérases différencie les intoxications par OP de celles par les carbamates au cours desquelles les cholinestérases sont spontanément et rapidement réactivées.

I.2.1.3. Effets sur d'autres systèmes enzymatiques

Certains OP peuvent phosphoryler une protéine du système nerveux central, la neuropathy target esterase (NTE) encore dénommée estérase neurotoxique en raison de ses propriétés neurotoxiques. Cette enzyme se retrouve également dans les leucocytes et les plaquettes. La diminution de sa forme lymphocytaire est un facteur prédictif de survenue d'une neuropathie postintervallaire (**Moretto et Lotti, 1986**).

I.2.4.Toxicité des organophosphorés

I.2.4.1.Intoxications aiguës

➤ Effets muscariniques

Ils résultent de la stimulation du système parasympathique (muscle cardiaque, lisse, cellules sécrétoires); apparaissent habituellement les premiers:

- Crampes abdominales, nausées, vomissements et diarrhées.
- Sensation de constriction thoracique, laryngospasme, bronchospasme, hypersécrétion bronchique, dyspnée . Un œdème pulmonaire est fréquent.
- Vision trouble, céphalées, myosis.
- Salivation, sudation, larmoiement, incontinence vésicale et rectale.
- Bradycardie et hypotension.

➤ Effets nicotiniques

Ils résultent de la stimulation du système nerveux autonome et de la jonction neuromusculaire:

- Fibrillation musculaire, en suite faiblesse musculaire et ataxie.
- En cas d'intoxication sévère peut survenir une paralysie des muscles respiratoires; qui en association avec les effets muscariniques représente une cause fréquente de décès par insuffisance respiratoire.

I.2.4.2.Intoxications chroniques

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

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

L'exposition répétée à certains esters OP peut avoir un effet cumulatif. Quand cette inhibition atteint un certain degré des symptômes similaires à ceux de l'intoxication aigüe apparaissent.

Autres manifestations:

- Modification du tracé électro-myo-graphique (EMG), réduction de la vitesse de conduction motrice.
- Anxiété, troubles comportementaux, anomalie à l'EEG.(**Testtud et Grillet, 2007**).

I.2.4.3.Toxicocinétique : le système ADME

a. Absorption

Après une revue des caractéristiques toxicologiques de différents OP, les OP semblent être absorbés facilement par toutes les voies, notamment la voie cutanée en milieu professionnel, mais aussi digestive, respiratoire (aérosols, poussières) et oculaire.

La transformation rapide ne permet pas vraiment de quantifier de l'absorption, surtout avec la variabilité des molécules ; les données d'excrétion indiquent qu'au moins 85% d'une dose orale sont absorbés pour le dichlorvos, et 30% pour le parathion par exemple. Bien que peu étudiée, l'absorption par inhalation serait aussi rapide et importante. (**Damien et al., 2010**).

b. Distribution

Après l'absorption, les OP sont transportés par le sang vers les tissus. Les demi-vies plasmatiques des OP sont courtes (10 minutes pour le dichlorvos) et par conséquent les OP s'accumulent peu dans les tissus. Toutefois, lors de nombreuses études, des concentrations importantes ont été retrouvées en particulier dans le cœur et la rate, mais aussi dans le sang, les urines, le cerveau, le foie et les reins. Des OP ont aussi été retrouvés dans les tissus graisseux (parathion, diazinon, fénitrothion), avec un passage transplacentaire rapporté chez le rat et le mouton. La contamination du lait maternel a été montrée (données ATSDR), avec un échantillon testé sur 10 contenant du chlorfenvinphos.

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

c. Métabolisme

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

d. Elimination

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

Ainsi, après ingestion, 30 à 40% du parathion est éliminé en 24h. Après absorption cutanée, l'excrétion est plus lente (10% en 5 jours). Comme on l'a vu, il s'accumule dans les graisses.

Le dichlorvos, lui est un exemple d'OP plus volatil, éliminé totalement de l'organisme (en 10 jours). L'élimination du [32P]-dichlorvos dans l'urine se fait sous forme de diméthylphosphate (50-85%) et quelques autres alkylphosphates ; le[14C]-dichlorvos et le [36Cl]-dichlorvos sont éliminés dans l'air expiré sous forme de CO₂ et aussi dans l'urine. (**Damien et al., 2010**).

I.3. Le Fenthion

I.3.1. Définition

Le fenthion est un insecticide organo-phosphoré à effet rémanent mis au point par **schrader (1960)** ; il a fait ses preuves dans la lutte contre les moustiques anophèles vecteurs du paludisme. Des études préliminaires entreprises sous les auspices sue différent types de surfaces ; ces mêmes travaux ont permis de constater Au Nigéria que quelques-uns des occupants des habitants ainsi traité présentaient une nette diminution d'activité de la cholinestérase du sang complet (**Elliott & Barnes**).

I.3.2. Propriétés particulières

I.3.2.1 Caractéristiques physiques

À l'état pur, le fenthion se présente sous la forme d'un liquide incolore et presque inodore, dont le point d'ébullition se situe à 87 °C à 0.01 mmHg. Le produit technique, pur à 95-98 %, est un liquide huileux brun caractérisé par une légère odeur d'ail.

I.3.2.2 Solubilité

Le fenthion est soluble dans l'eau à 20 °C, à raison de 54-56 ppm, et aisément soluble dans la plupart des matériaux organiques et des huiles glycéridiques.

I.3.2.3 Stabilité

Le fenthion est stable jusqu'à 160 °C et résiste à la lumière et à l'hydrolyse alcaline.

I.3.2.4 Pression de vapeur (volatilité)

4 x 10⁻⁵ mmHg à 20 °C. La pression de vapeur du fenthion est faible, mais ce composé est hautement volatile.

I.3.3. Etude toxicologie

I.3.3.1. Toxicité aiguë

- Rat, DL50, voie orale : environ 250 mg/kg p.c. (**FAO 2004**), 140-615 mg/kg p.c. (**APVMA 2012a**).

-Souris, DL50, voie orale : 150-290 mg/kg p.c. (**APVMA 2012a**).

-Rat, DL50, voie cutanée : environ 586 mg/kg p.c. (mâles) / environ 800 mg/kg p.c (femelles) (**FAO 2004**); 325-> 5 000 mg/kg (**APVMA 2012a**).

-Souris, DL50, voie cutanée : 500-2 000 mg/kg p.c. (**APVMA 2012a**).

-Rat, CL50, inhalation : environ 507 mg/m³ (mâles) / environ 454 mg/m³ (femelles) (poudre, exposition pendant 4 h) (**FAO 2004**)

--Lapin, irritations cutanée et oculaire : non-irritant (**FAO 2004, APVMA 2012a**).

Cobaye, sensibilisation cutanée : non-sensibilisant (**FAO 2004, APVMA 2012a**).

Les toxicités aiguës par voies orale et intrapéritonéale de l'analogue oxygéné du fenthion et de ses dérivés sulfoxydes et sulfones, que l'on pense être les principaux métabolites actifs, étaient de 5 à 10 fois supérieures à celles du fenthion (**APVMA 2012a**).

Le fenthion potentialisait la toxicité aiguë des malathion, dioxathion et coumaphos chez le rat, et des malathion et coumaphos mais pas du dioxathion chez le chien (**APVMA 2012a**).

I.3.3.2.Toxicité chronique

-Effet critique : effet anticholinestérasique (**UE 2002**).

-Voie orale, DSENO, valeur pertinente la plus faible : 0,1 mg/kg p.c./j, 1 an, chien (**UE 2002**).

-Voie cutanée, DSENO, valeur pertinente la plus faible : 0,1 mg/kg p.c./j, 21 jours, lapin (**UE 2002**).

-Inhalation, DSENO, valeur pertinente la plus faible : 1 mg/m³/j, 21 jours, rat (**UE 2002**).

Chapitre II : Les Plantes Médicinales : Les Plantes à usages thérapeutiques

II.1. Définition et Utilisation

Les plantes médicinales sont essentiellement celles qui contiennent une ou plusieurs substances secondaires physiologiquement actives et qui ont des propriétés cicatrisantes (ces plantes sont rarement utilisées directement, car elles sont éliées alnélois en médecine avec des substances simples, elles créent des matières premières soit pour isoler leurs principes actifs sous forme pure, ou pour commencer à les utiliser globalement, avec un autre matériel (Ameenach, 2006).

Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine, En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion, Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine; feuille, fleur (Dutertre, 2011). Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle (MTR) dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) composés présents (Sanago, 2006).

II.2. Métabolites secondaires (principes actifs) des plantes médicinales

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protéides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires. Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais résultent de réactions chimiques ultérieures. Les métabolites secondaires sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Plus de 200.000 structures ont été définies (Hartmann, 2007) et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faibles quantités. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique.

Ces métabolites secondaires ont des fonctions très importantes pour la survie et la propagation des plantes qui les produisent, comme signaux chimiques, pour défendre leur producteur contre les herbivores et les pathogènes, comme ils participent à des réponses allélopathiques (compétition entre les plantes pour la germination et croissance). Certains assurent une protection contre les radiations solaires et d'autres facilitent la dispersion du pollen et des graines (Chimie, 2017). Les métabolites secondaires sont aussi très exploités par

l'Homme dans les différents domaines : dans le domaine culinaires comme colorants et arômes, dans le domaine agricole comme herbicides et dans le domaine médical comme antibiotiques, antioxydants, drogues ...etc. (France, 2012) (Krief & M, 2004). On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Krief & M, 2004) (Gurib-Fakim, 2006).

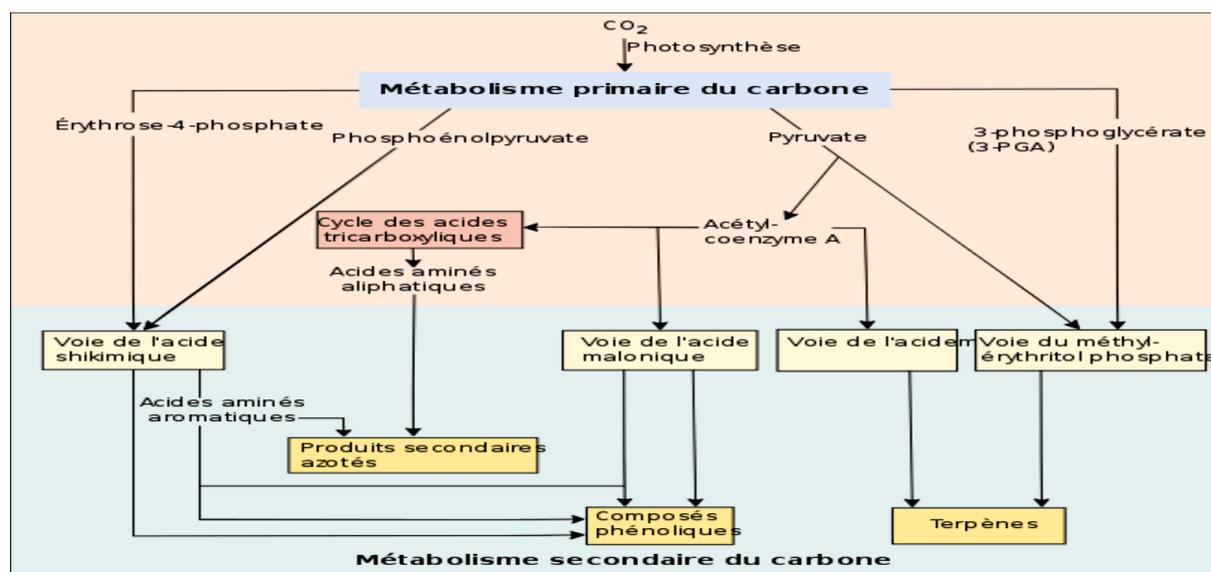


Figure 05 : Voies du métabolisme secondaire des plantes qui produisent les trois types généraux de composés secondaires : produits azotés, composés phénoliques et terpénoïdes. La relation avec le métabolisme primaire est également indiquée (Taiz & Eduardo, 2006).

II.3. Les plantes médicinales en Algérie

Les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la majorité des populations rurale et urbaine en Afrique et représentent le principal moyen par lequel les individus se soignent (Badiaga,2012). Malgré les progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement (Tabuti et al., 2003). L'Algérie, par la richesse et la diversité de sa flore, constitue un véritable réservoir phylogénétique, avec environ 4000 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires (Hamel et al., 2013). Cependant, la flore médicinale algérienne reste méconnue jusqu'à nos jours, car sur les quelques milliers d'espèces végétales, seules 146 sont dénombrées comme médicinales (Hamel et al., 2018).

II.4. *Ephedra alata alenda* : une espèce à pouvoir thérapeutique promoteur

L'*Ephedra* est l'une des plantes médicinales les plus connues depuis plus de 5000 ans dans la médecine traditionnelle chinoise pour le traitement des allergies, l'asthme bronchique, les frissons, la fièvre, la grippe, les maux de tête, le rhume des foins, congestion nasale et troubles du système nerveux central. (Gherraf et al., 2014 ; Bagheri-Gavkosh et al., 2009 ; Parsaeimehr et al., 2010).

II.4.1. Description botanique d'*Ephedra alata* :

Il s'agit de l'un des rares arbustes des zones sahariennes (**figure 07**), vivace , raide , jaune-vert de 0.5 à 2m de haut (Catier et Roux, 2011) , également considéré comme nanophanérophyte au sens de Raunkiaer (1934). Les rameaux sont articulés et portent au niveau des noeuds des feuilles réduites en écailles et opposées, alternes. Les fleurs unisexuées sont groupées en petits cônes. Les fleurs mâles et femelles sont généralement sur des pieds différents. Toutefois, on peut dans certains cas observer des individus portant les deux types de fleurs. Les cônes mâles sont groupées en chatons jaunâtres, Les cônes femelles à bractées s'accroissent pendant la maturation. (Bruneton, 2009).

Les tiges rameuses sont photosynthétiques de type balai vertes (Mayer et Susan, 2008) à port de préle à rameaux grele, anguleux et striés. Elles présentent aussi un système de racines latérales extrêmement puissant (Derbal et al., 2010) et peuvent dépasser 1 m de hauteur, avec une forte odeur de pin et une goût astringent (Abourashed et al., 2003)

II.4. Position systématique

Selon la Flore Medcheclist (Greuter 1981-1989) et le catalogue de Dobignard et Chatelain (2010), la position systématique d'*Ephedra alata-alenda* est la suivante:

- Embranchement : Spermaphytes
- Sous embranchement: Gymnospermes
- Classe : Gnetopsida
- Ordre : Ephedrales
- Famille : Ephedraceae
- Genre : *Ephedra*
- Espèce : *Ephedra alata*
- Sous espèce: *Ephedra alata alenda*



Figure 07 : Port général d'*Ephedra alata* (A) ; rameau fleurit (B) et fleur en épanouissement (C).

II.4.3. Origine et répartition géographique

E. alata c'est une plante originaire des régions tempérées et latitudes subtropicales (**figure 08**) de:

- L'Afrique: Algérie; Egypte, Libye, Maroc, Tunisie, Mauritanie, Tchad, Mali ;
- L'Asie : Arabie Saoudite, Irak, Iran, Palestine, Liban, Jordanie, Syrie et pousse surtout dans le nord et l'ouest de la Chine, le nord de l'Inde et
- l'Amérique, Aux États-Unis, l'éphédra pousse au long des montagnes Rocheuses (**Al-Snafi, 2017 ; Bell et Bachman, 2011**).

En Algérie, *E. alata* se trouve dans le Sahara septentrional et occidental au niveau des terrains sableux, des regs et les lits sablonneux des oueds. Elle est même rencontrée dans le sable de l'étage tropical et la Hamada de Tinghert (**Ozenda, 1991**).

E. alata est une excellente espèce fixatrice de sable éolien. Toutefois, la qualité de son charbon de bois, apprécié par les populations sahariennes, l'expose au phénomène du déboisement.

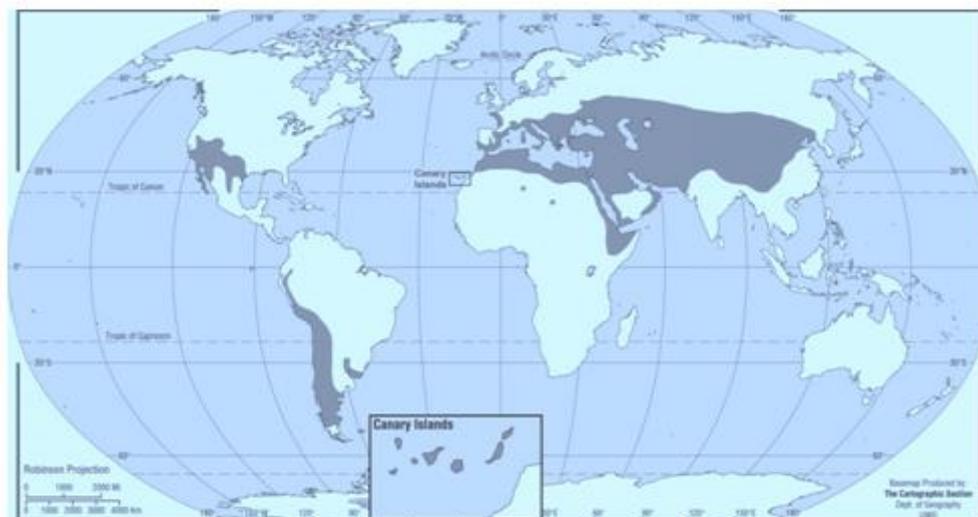


Figure 08 : Distribution de l'*Ephédra* dans le monde (Cavaney et al., 2001)

II.4.4. Utilisation en médecine traditionnelle :

Le dispensatoire chinois écrit en 1569 mentionne que les espèces d'éphédra étaient utiles comme antipyrétiques, diaphorétique, stimulant circulatoire et sédatif pour la toux. Cependant, l'*éphédra* a été utilisé dans la médecine chinoise pour traiter les allergies, l'asthme, les poumons congestion, frissons, rhumes, rhume des foins, toux, oedème, fièvre, grippe, maux de tête et congestion nasale.

La plante était aussi traditionnellement utilisé en Russie pour le traitement respiratoire troubles et rhumatismes pendant de nombreux siècles. (Al-sanafi, 2017) *Ephedra alata* a été couramment utilisé dans la médecine traditionnelle en Egypte et la plupart des les pays arabes. *Ephedra alata* a été utilisé pour le traitement de l'asthme, du foin la fièvre et le rhume (Ghanem et El-Magly, 2008). La poudre d'*Ephedra alata* est utilisé comme un traitement contre le diabète en Maroc (Ghourri et al., 2013) en Palestine, Il est utilisé en médecine traditionnelle pour traiter les allergies, l'asthme bronchique, les frissons, le rhume, la toux, l'oedème, la fièvre, la grippe et les maux de tête (Al-Rimawi et al., 2017).

En Algérie, *Ephédra alata* est utilisé contre la grippe, les troubles respiratoires et la faiblesse générale en tisane et par inhalation ainsi que sous forme de gouttes nasales contre les rhumes. Elle est très appréciée par le dromadaire (Boulberhane et Nabti, 2017 ; Ould EL hadj et al., 2003).

Les parties utilisés dans la médecine traditionnelle sont les feuilles et les rameaux (Ould El hadj et al., 2003) et aussi les tiges vertes séchées, qui sont usuellement bouillies dans de l'eau pendant environ trente minutes et administrées comme thé chaud (Abourashedet al., 2003).

II.4.5. Pharmacologie et Toxicologie

Des travaux antérieurs, ont permis de constater la richesse des espèces sahariennes en ces biomolécules. Ils ont aussi mis en évidence l'intérêt pharmacologique de la flore saharienne, sans oublier les risques de toxicité.

Les effets pharmacologiques et toxicologique de l'*Ephédra alata* semble être attribuable à ses alcaloïdes de types éphédrine, principalement (-) éphédrine et (+) pseudoéphédrine. **(Limbergeret *al.*, 2013 ; Chen *et al.*, 2010 ; Ma *et al.*, 2007).**

II.4.5.1. Pharmacologie

L'éphédrine est un sympathomimétique indirecte. Structuralement très proche de l'adrénaline , elle provoque la libération des catécholamines endogènes des fibres sympathique post-ganglionaire. Elle stimule l'automatisme cardiaque et exerce une activité inotrope positive ; l'éphédrine accélère les mouvements respiratoires bulbaire, elle affaiblit les capacités contractiles de la vessie. Difficilement dégradé, elle est utilisable par voie orale et son action est plus durable que celle de l'adrénaline bien résorbée, fortement lipophile, l'éphédrine franchit la barrière hémato-encéphalique et libérant les médiateurs au niveau centrale, induit une action psychostimulante de type amphétaminique : stimulation de l'attention et de la capacité de concentration, diminution de la sensation de fatigue et du besoin de sommeil , etc. L'éphédrine induit un phénomène de tachyphylaxie, c'est-à-dire à une disparition rapide des effets lors d'administrations répétées **(Bruneton,2009).**

La pseudo-éphédrine a montré une forte activité diurétique dans des expériences sur des chiens et des lapins **(Blumenthal et King, 1995).**

II.4.5.2 Toxicologie

Toutefois, la phytothérapie n'a pas que des effets bénéfiques. Comme tout produit actif, elle peut avoir des effets indésirables, toxiques et allergiques. Des études sur les propriétés phytochimiques ou biologiques de plusieurs produits végétaux ont démontré l'action et le potentiel toxique de ces produits sur les systèmes cellulaires des mammifères **(Aline, 2010).**Cette toxicité dépend de la nature de la substance, de la dose, de la durée d'exposition et de différents facteurs liés à l'individu (sexe, âge, état nutritionnel et hormonal) **(Tron , 2002).** À fortes doses, l'éphédrine provoque de la nervosité, des maux de tête, de l'insomnie, des vertiges, des palpitations, des rougeurs de peau, des picotements et des vomissements.

Selon le manuel des médicaments en vente libre qui a noté : "Les principaux effets indésirables de l'éphédrine sont la stimulation du système nerveux central, les nausées, les tremblements, la tachycardie [battement de coeur rapide] et la rétention urinaire."

Un groupe consultatif de la FDA sur les médicaments antitussifs, contre la toux, le rhume, l'allergie, recommandait d'éviter l'éphédrine aux personnes souffrant de cardiopathie, d'hypertension, de maladie de la thyroïde, de diabète ou de miction difficile en raison d'une hypertrophie de la prostate (**Blumenthal et King, 1995**).

Ces effets peuvent être les raisons pour lesquelles l'utilisation de l'Ephédra est recommandée uniquement pour les situations aiguës en médecine traditionnelle chinoise et contre-indiqué pour une utilisation à long terme (**Chen et al., 2010**).

Étant donné que l'éphédrine provoque la libération de noradrénaline, l'administration d'éphédrine à un patient recevant un inhibiteur de la monoamine oxydase, ce qui diminue la dégradation et augmente le stockage de noradrénaline, peut entraîner une hypertension grave. Cette interaction peut être fatale (**Blumenthal et King, 1995**).

II.5. Chimie de plante :

L'analyse phytochimique préliminaire d'*Ephedra alata* a révélé la présence de glycosides cardiaques, de sucres réducteurs, de flavonoïdes, de composés phénoliques, d'alkaloïdes (**Al-Snafi, 2017**).

Ephédra c'est une source naturelle d'alkaloïdes tels que : éphédrine, pseudo-éphédrine, noréphédrine, norpseudoéphédrine, méthyléphédrine et méthylpseudo-éphédrine. À côté des alkaloïdes de type E, de l'éphédroxane et des spermidines macrocycliques appelées éphédradine AD, ont été découverts chez certaines espèces d' *éphédra* d' Eurasie. (**Ibragic et Sofi_, 2015 ; Al-Snafi, 2017**).

L'éphédra contiendrait divers composés phénoliques, tels que l'acide trans-cinnamique, la catéchine, la syringine, l'épicatéchine, le symplocoside, le kaempférol 3-O-rhamnoside 7-O-glucoside, l'isovitexine 2-O-rhamnoside, qui contribuent de manière significative à l'activité antioxydante de la plante (**Al-Rimawi et al., 2017**).

Les autres composés phytochimiques comprennent les kynurénates, les acides citrique, malique et oxalique, les saponines, les cristaux d'oxalate de calcium et les oligo-éléments. Selon plusieurs rapports, les composés volatils présents dans cette plante sont principalement représentés par des terpénoïdes et peuvent être utilisés comme marqueurs chimio taxonomiques.

Les composés phénoliques et leurs sous-groupes de flavonoïdes les plus importants sont des composés aromatiques largement répandus dans le règne végétal (**Ibragic et Sofi_, 2015**).

***Alcaloïdes:** Les parties aériennes des différentes espèces d'Ephédra contiennent de 0,02 % à 34 d'Alcaloïdes concentrés dans les entre-nœuds (**Leung et Foster, 1996**). Environ 80% de

ces Alcaloïdes sont représentés par L 'Ephédrine qui est connu pour être la substance actif de ce genre (Phinney et al., 2005), on trouve aussi la Pseudoéphédrine, la Norephedrine et la Méthyléphédrine (Yuki et al., 2009). Il est à noter que Les Alcaloïdes peuvent être utilisés Comme antipaludéens, antalgiques, antispasmodiques, bactéricides et stimulants, à fortes concentrations ces molécules entraînent très souvent une toxicité aiguë (Rujjanawate et al., 2003).

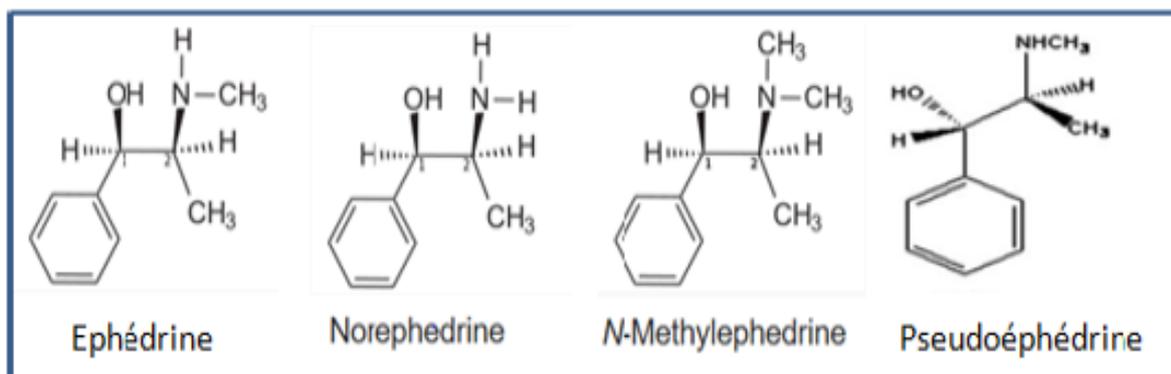


Figure 09 : Structure chimique de l'Ephédrine, Norephédrine , N-Méthyléphédrine et Pseudoéphédrine (Guoyi et al, 2007).

*Acides phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux qui jouent un rôle important dans la résistance aux maladies et la protection contre les parasites, (Servili et Montedor 2014), o, 20 l'Ephédra contient divers composés phénoliques, tels que acide Trans-cinnamique, Catéchine, Syringine, Epicatéchine, Eymplcoside, Kaempférol 3-O-Rhamnoside 7-O-Glucoside, Isovitexine 2-O-Rhamnoside, qui contribuent de manière significative à l'activité antioxydante de la plante (Amakura et al., 2013).

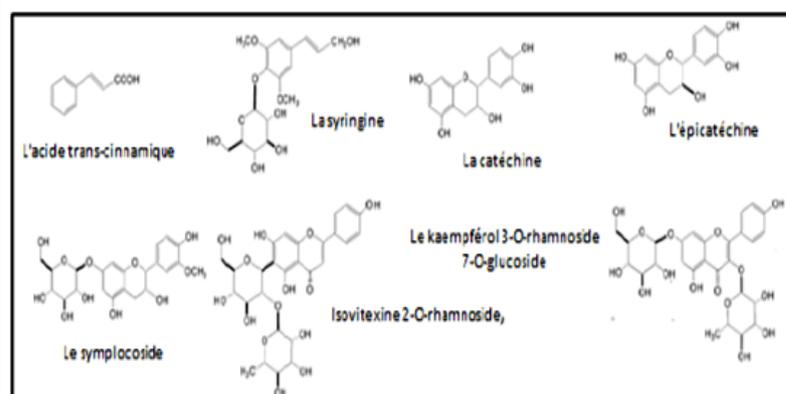


Figure 10 : Structure de quelques composés phénoliques de l'éphedra (Amakura et al , 2013)

*Tanins

Les tanins, principalement les Proanthocyanidines sont produits en grande quantité dans les tiges de cette plante, lui conférant son gout astreignant (Soni et al., 2004), il est à noter que les des tanins sont des composés phénoliques faisant précipiter les protéines et possédant propriétés antioxydantes, ils ont également la capacité de stopper le développement des microbes (Bruneton, 1999).

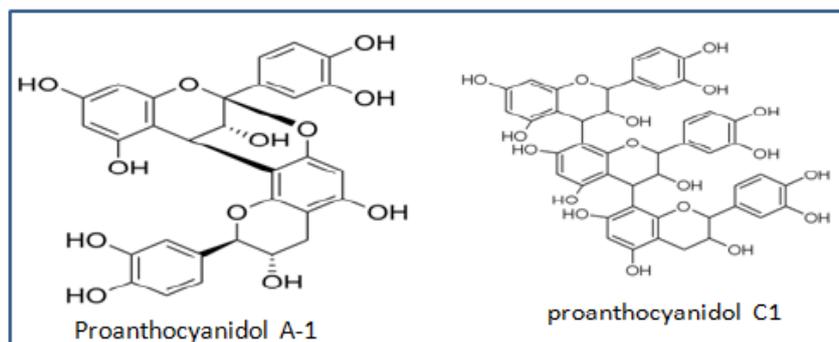


Figure 11 : Structure des proanthocyanidines types A.1et C1(Bruneton,2009).

*Flavonoïdes

Ce sont des pigments responsables de la coloration chez les végétaux, ils protègent la plante des différents agents pathogènes, possédant une activité antioxydante et pouvant diminuer la perméabilité capillaire en renforçant leur résistance, ils sont connus par leur capacité à inhiber la croissance des cellules cancéreuses (Hidayat et Fatmawati, 2016; Ueli et al., 1991). Les flavonoïdes isolés chez Ephédra alata sont de type Flavone dont: Herbacetine, Ivicenine II, Lucenine, Apigenin, Kaempferol 3-Rhamnoside, Quercétine 3Rhamnoside et Herbacetine 7-O-Glucoside (Nawwar et al., 1984).

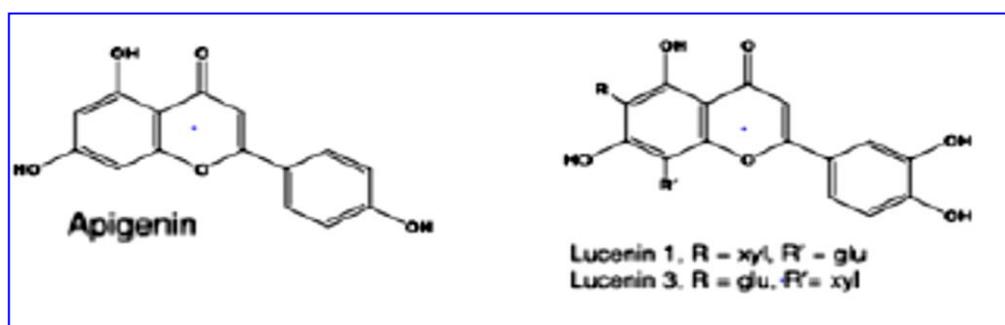


Figure 12 : Structure de quelques flavonoïdes contenus dans le genre Ephedra (castledina et Harbone , 1976 ;Chumbalov et Chekmenva,1976).

Chapitre III : Stress oxydatif et antioxydant.

III.1. stress oxydatif

III.1.1. Définition

Des composés à fort potentiel oxydant, sont produits constamment en situation physiologique au sein d'un organisme. Il se met alors en place un système antioxydant qui contient notamment des enzymes, des vitamines, des oligoéléments, le glutathion. Ce système est un moyen de défense en cas de production excessive d'ER. Le stress oxydant se définit donc comme un déséquilibre entre la production d'ER et les systèmes de défense (**Haleng et al., 2007**).

Cette régulation, appelée équilibre redox, se fait en permanence. En situation normale, la balance anti-oxydant/pro-oxydant est équilibrée. Mais l'organisme peut être confronté à une surexposition à des composés oxydants lorsque la production endogène d'ERO devient excessive ou suite à l'exposition à un phénomène toxique exogène. Lorsqu'un déséquilibre intervient (par surproduction de composés pro-oxydants ou par déficit en substances anti-oxydantes), on parle de stress oxydatif ou stress oxydant (**Boyer, 2016**).

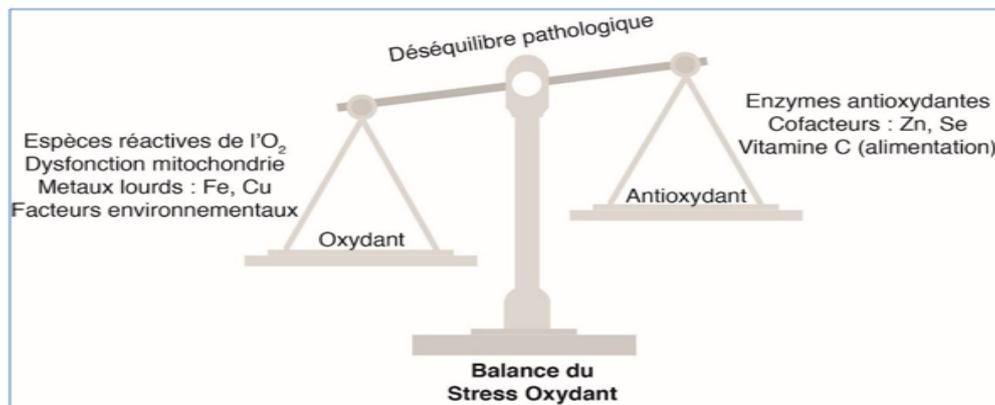


Figure13 : Le stress oxydant induit par un déséquilibre entre pro-oxydant et système antioxydant. (Gueye, 2007).

III.1.2. les radicaux libres

III.1.2.1. Définition des Radicaux libres

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

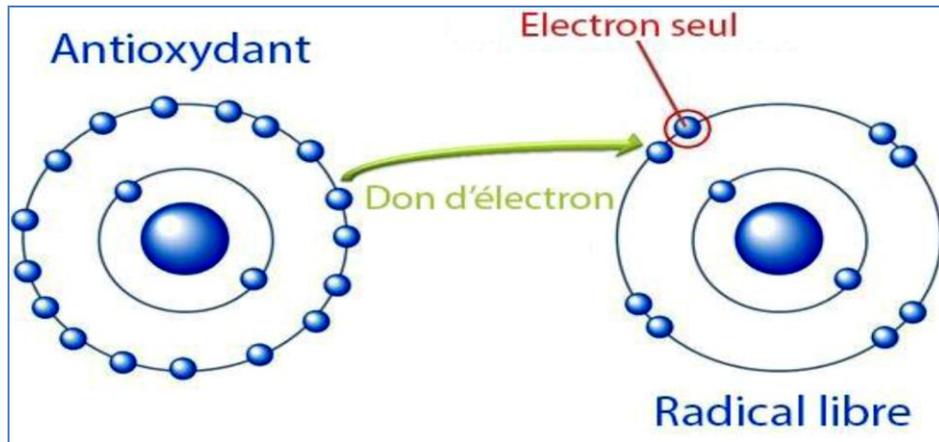


Figure 14 : Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant.

III.1.2.2. Différentes formes des radicaux libres

Les ER se divisent en deux familles : les espèces réactives de l'oxygène (EROs) et les espèces réactives de l'azote (ERNs).

Tableau 03 : Les principales espèces réactives.

Espèces Radicalaires	Espèces Non Radicalaires
Anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$	Peroxyde d'hydrogène H_2O_2
Radical hydroxyl HO^{\cdot}	Acide hypochloreux $HOCl$
Monoxide d'azote NO	Peroxynitrite $ONOO^{\cdot-}$
Grande instabilité : stabilisation par réaction avec les constituants cellulaire	Eléments de décomposition pour la détoxification par les systèmes de défense enzymatique

Comme indiqué dans le **Tableau 03** elles peuvent être de nature radicalaire ou non. Un radical se définit comme une espèce chimique possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche périphérique lui conférant ainsi une grande réactivité. La production d'ER peut être soit d'origine endogène soit due à des facteurs exogènes tels que les métaux lourds, les rayonnements ionisants et les rayons ultra-violet, les polluants atmosphériques tels que la fumée de cigarette mais également des médicaments (paracétamol, anthracyclines...).

III.1.2.3. Source des radicaux libres

III.1.2.3.1. Sources internes

A. Membranes mitochondriales

Les ROS résultent du métabolisme cellulaire, surtout au niveau des mitochondries. Environ 90% de l'oxygène consommé durant la respiration cellulaire est réduit en eau, tandis que 5% se transforme en ROS (**Becker, 2004**). Il existe des enzymes au niveau des membranes mitochondriales comme la NADH déshydrogénase qui réduisent l'O₂ en O₂⁻ (Niviere et Fontecave, 1994). En outre, l'H₂O₂ est produit par ces organites suite à la dismutation de O₂⁻, et le radical OH⁻ est produit durant la réaction de Haber-Weiss (**Freeman *et al.*, 1982**). L'auto-oxydation de l'ubisemiquinone est la source principale des ions O₂⁻ au niveau des mitochondries (**Niviere et Fontecave, 1994**).

B- La NADPH oxydase

C'est une oxydase qui se trouve au niveau des membranes plasmiques. Elle utilise l'oxygène pour produire de l'O₂⁻ selon la réaction suivante (**Piotrowski et Marczak, 2000 ; Gutteridge, 1993**)



C- La xanthine oxydase

Elle produit l'O₂⁻ par la réduction de l'hypoxanthine en xanthine et celle-ci en acide urique (**Harison, 2002**) où l'oxygène joue le rôle de récepteur d'électrons (**Mckelvey *et al.*, 1988 ; Parks *et al.*, 1988**).

D- L'enzyme NOS (Nitric Oxide Synthase)

Cette enzyme produit le radical NO⁻ qui sera ensuite oxydé pour produire d'autres types de RNS (**Coleman, 2001**).

E- Cyclooxygénase (COX) et Lypooxygénase (LOX)

Ces deux enzymes se trouvent au niveau des membranes plasmique et microsomique, elles produisent le radical OH⁻ durant l'anabolisme des prostaglandines (**Hill *et al.*, 1989**).

F- L'auto-oxydation de quelques petites molécules

C'est la source la plus importante de la production des ROS, parmi ces molécules citons : dopamine, adrénaline, flavine et hydroquinone (**Younes, 1999 ; Thannickal et Fandurg, 2000**), ainsi que quelques groupements : thiols, hémoprotéine et tetrahydroprotéine ; et aussi quelques ions métalliques (**Younes, 1999**).

2.3.2. Sources externes

La production en excès des radicaux libres peut être induite suite à l'exposition à des agressions de l'environnement, comme les agents infectieux, la pollution, les UV, les métaux

toxiques (Cuivre, Chrome...).Le déséquilibre peut aussi être dû à un apport insuffisant d'antioxydants par le régime alimentaire (Pelli et Lyly, 2003). La fumée de cigarette, les alcools et les médicaments sont aussi des sources de ROS (Garait, 2006 ; Hadi, 2004).

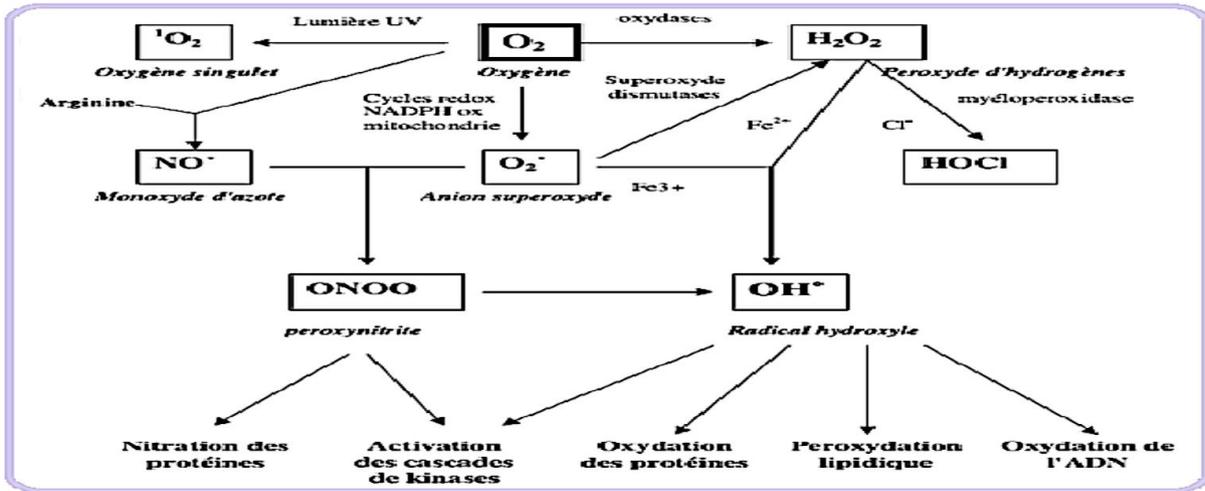


Figure 15: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie. (Favier, 2003).

III.1.3. Les cibles des dérivés actifs de l'oxygène

Le stress oxydatif, dû aux radicaux libres, entraîne des dégâts tissulaires essentiellement par l'oxydation des protéines, de l'ADN ou des lipides (Figure 16).

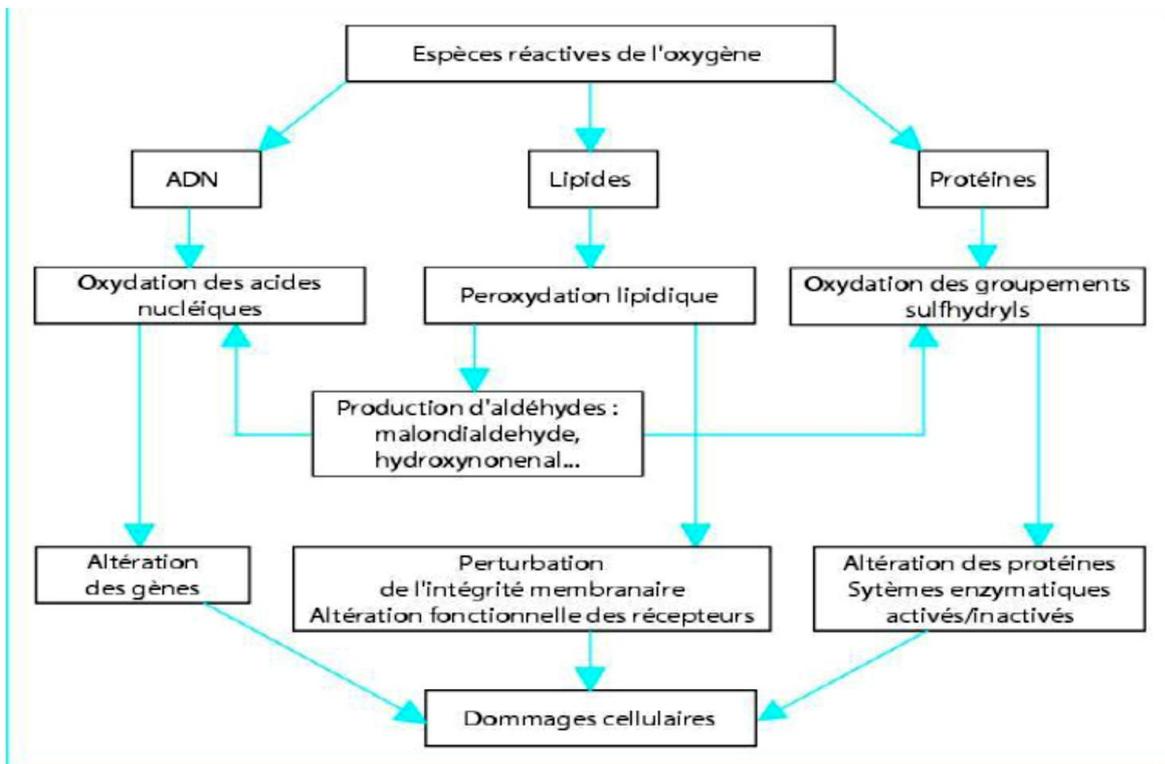


Figure 16: Les cibles biologiques du stress oxydatif (Bounihi, 2016).

III.1.3.1. Les protéines

Tous les acides aminés peuvent être oxydés par les ROS et former des groupements carbonylés. Les acides aminés soufrés (cystéine et méthionine) et aromatiques (tyrosine et tryptophane) sont les plus sensibles à l'oxydation. Par exemple, l'oxydation des groupements thiols (-SH) peut donner lieu à la formation de pont disulfure entre deux résidus (**Davies, 2000**).

Ces dommages peuvent entraîner des altérations structurales et fonctionnelles importantes : perte d'activité enzymatique, non reconnaissance de la protéine par son récepteur. Normalement, ces protéines non fonctionnelles sont prises en charge par des systèmes protéolytiques tel que le protéasome et dégradées. Cependant, lorsque ces systèmes protéolytiques sont défaillants, les protéines oxydées peuvent former des agrégats, dû au fait qu'elles deviennent hydrophobes et s'accumuler dans les cellules (**Grune et al., 1997**) (**Erkekoglu et al., 2012**).

La diminution de groupements thiols ou la présence de protéines carbonylées, sont des marqueurs de l'oxydation de protéines, mesurables par différents tests biochimiques.

III.1.3.2. Les lipides

Les lipides, et plus particulièrement les acides gras polyinsaturés, sont la cible privilégiée du radical hydroxyle et vont former un radical peroxy. Le radical peroxy, après évolution peut libérer différents aldéhydes toxiques dont le malondialdéhyde ou l'hydroxynonanal (**Davies, 2000**). Cette attaque des lipides peut concerner les lipides membranaires ou les lipides circulants. En fonction du type de lipide concerné, les conséquences seront différentes. L'oxydation des lipides circulants va aboutir à la formation de LDL oxydées qui seront captées par des macrophages. Les macrophages vont se transformer en cellules spumeuses, qui jouent un rôle important dans le développement de l'athérosclérose (**Haleng et al., 2007**). De plus la présence de LDL oxydées va entraîner une production de cytokines pro-inflammatoire (**Saad et al., 2006**). L'oxydation des lipides membranaire va entraîner une altération de la fluidité membranaire, de sa perméabilité mais aussi une perte d'activité des récepteurs (**Cillard & Cillard, 2006**).

La glutathion peroxydase mais aussi la vitamine E (α -tocophérol) sont connus pour participer à la détoxification des peroxydes lipidiques (**Anderson et al., 2012**). La présence de malondialdéhyde (MDA) ou de 4-hydroxynonanal (4-HNE) représente des marqueurs de l'oxydation lipidique détectable par des tests biochimiques ou immunologiques.

III.1.3.3. L'ADN

L'oxydation de l'ADN constitue une caractéristique majeure retrouvée dans des conditions de stress oxydant accru. La base guanine est principalement touchée par les phénomènes d'oxydation de l'ADN. La guanine va réagir avec le radical hydroxyle pour former du 8-hydroxy-2'-désoxyguanosine (8-OH-dG). Le 8-hydroxy-2'-désoxyguanosine va alors s'apparier avec l'adénine au lieu de la cytosine ce qui va induire des mutations au sein de l'ADN (**Haleng et al., 2007**). Le radical hydroxyle peut aussi réagir avec les groupements aromatiques des bases d'ADN (**Nikitaki et al., 2015**).

Ces altérations de l'ADN peuvent entraîner des coupures de l'ADN simple brin et double brin. Il existe plusieurs systèmes de réparation de l'ADN. Certaines enzymes permettent la réparation directe de l'ADN. La réparation de l'ADN peut se faire également par excision des bases endommagées, celles-ci sont remplacées en utilisant le brin intact comme matrice. Cependant, l'efficacité de ces systèmes dépend de plusieurs facteurs comme l'âge de la cellule ou le type de cellule. De plus, si les dommages sont trop importants, la cellule va entrer en apoptose ou dans un cycle de division cellulaire non contrôlé aboutissant à la formation de tumeurs cancéreuses.

Mesurer les dommages de l'ADN peut s'avérer être délicat du fait du faible taux de dommage. Il existe plusieurs méthodes permettant d'effectuer ces mesures. Certains anticorps sont utilisés permettant de détecter les modifications au niveau de l'ADN (**Nikitaki et al., 2015**). Il est possible aussi d'utiliser des enzymes de réparation de l'ADN qui vont convertir les lésions de l'ADN en cassure. Les brins d'ADN sont ensuite séparés par électrophorèse ou par élution (**Ravanat, 2005**). Enfin, certaines techniques de chimie analytique (HPLC) peuvent être utilisées pour mesurer les dommages de l'ADN (**Chtourou et al., 2016**).

III.2. Les antis oxydants

III 2.1. Définition

Antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou inhiber la génération d'un oxydant toxique, d'arrêter ceux qui sont déjà produits et de les inactiver, bloquer de ce fait la réaction en chaînes de propagation produite par ces oxydants (**Tang et Halliwell, 2010**).

Selon (**Valko et al. 2006**), un antioxydant devrait à la fois

- Agir spécifiquement sur les radicaux libres
- Chélater les métaux de transition
- Agir en synergie avec d'autres antioxydants pour se régénérer

-Agir à des concentrations physiologiques relativement faibles.

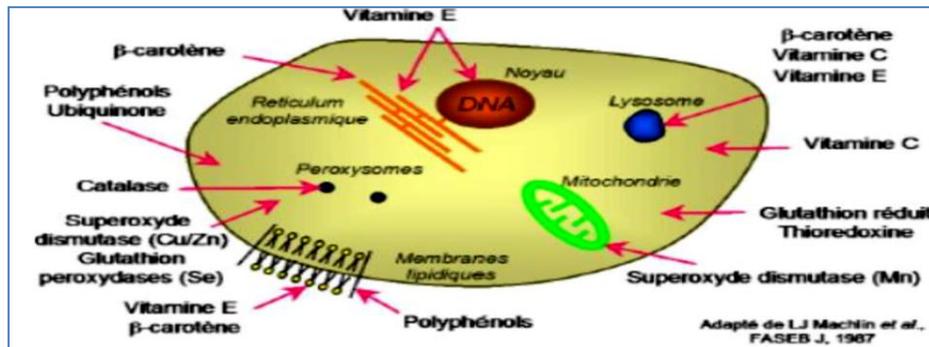


Figure 17 : Répartition des principales défenses anti-oxydantes dans la cellule (Mn-SOD) : super-oxyde dismutase mitochondriale, (Cu/Zn-SOD) : super-oxyde dismutase cytosolique, (GPx) : glutathion peroxydase, (GSH) : glutathion réduit (garait, 2006)

III.2.2. Les différents types des antioxydants

Les antioxydants forment un système de protection du corps contre les radicaux nocifs. Ce système peut être enzymatique, impliquant des enzymes telles que glutathion peroxydase, super-oxyde dismutase et la catalase ; ou non enzymatique, impliquant des antioxydants obtenus à partir de l'alimentation tels que les vitamines E et C, les caroténoïdes, le sélénium, les folates, les flavonoïdes, les phyto-estrogènes et les glucosinolates (Ghanem et Ghanem, 2005).

III.2.2.1. Les antioxydants enzymatiques

a. Le super-oxyde dismutase (SOD)

C'est une métalloprotéine qui catalyse la dismutation d' O_2^- en H_2O_2 selon la réaction suivante:

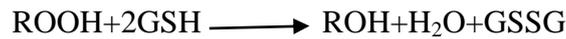


chez les mammifères, trois isomères enzymatiques de la SOD sont trouvées. Elles se différencient par leur emplacement dans la cellule et par la nature du métal qui existe dans leur structure : La Cu/Zn-SOD se trouve dans le cytosol et le noyau, la Mn-SOD existe au niveau des mitochondries et la Ec-SOD qui se trouve hors de la cellule (Stéphane, 2004).

B- Glutathion peroxydase (GPX)

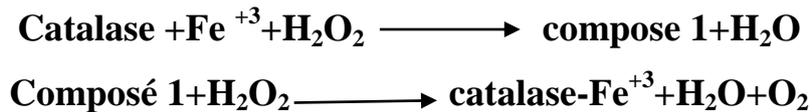
Elle se trouve au niveau des mitochondries et dans le cytosol. Cette enzyme peut réagir avec l' H_2O_2 et avec les hydroperoxydes qui résultent de l'oxydation du cholestérol et des acides gras (Herbette *et al.*, 2007 ; Thérond et Denis, 2005). La GPX catalyse les réactions suivantes (Ganther, 1999):





C- La Catalase

Elle existe dans tout les organes du corps, mais surtout au niveau du foie, des globules rouges et des reins. Elle est formée de quatre sous unités, chacune contient un groupement d'Hème relié au site actif Fe^{3+} . La CAT réagit avec le H_2O_2 est le transforme en H_2O et O_2 selon la réaction suivante (Gutteridge et Halliwell, 1992; Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2003) :



III.2.2.2. Les antioxydants non enzymatiques

A- L'acide L-ascorbique

L'acide L-ascorbique ou vitamine C est un important antioxydant hydrosoluble, capable d'interagir avec plusieurs dérivés de l'oxygène comme O_2^- , H_2O_2 , 1O_2 , NO et HO. (B.Roberfroid, 2002) (Figure 18).

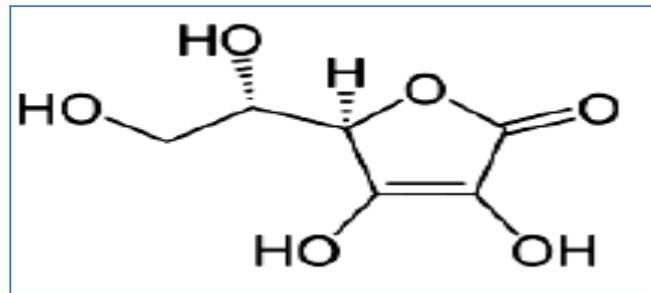


Figure18: Structure cyclique de l'acide L-ascorbique (Hennen, 1996).

B- La vitamine E

Le composé α -tocophérol ou vitamine E se trouve au niveau des membranes plasmiques, il a une activité anti-oxydante concentrée sur le phénomène de peroxydation lipidique qui touche les acides gras insaturés. En particulier, la vitamine E est capable d'arrêter les chaînes radicalaires en faisant réagir son groupement phénol avec des radicaux peroxydes lipidiques (L-OO), intermédiaires radicalaires des chaînes de peroxydation, pour les transformer en hydroper-oxydes lipidiques tout en donnant naissance à un radical tocophéryle. Ce dernier est peu réactif et peut être réduit par l'ascorbate et glutathion, soit oxydé ultérieurement en quinone (Roberfroid, 2002) (Figure 19).

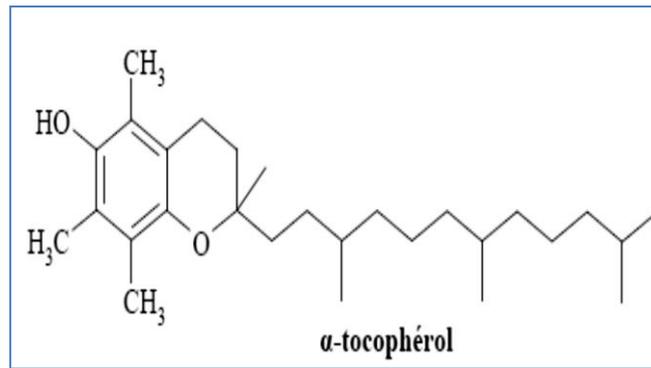


Figure19: Structure chimique de la vitamine E (Hennebelle, 2006).

C- Les caroténoïdes

Ce sont un groupe de plusieurs centaines de substances naturelles jouant le rôle de pigments de couleurs jaune à rouge dans beaucoup de fruits et de légumes. Deux groupes majeurs peuvent être distingués : les xanthophylles qui sont des caroténoïdes porteurs de substituants oxygénés (la lutéine, la zeaxanthine et la cryptoxanthine), et les carotènes qui ne contiennent pas d'oxygène (l' α - et le β -carotène, le lycopène) (Roberfroid, 2002)(Figure 20). Les caroténoïdes réagissent avec l'oxygène singulet, et protègent la peau des rayonnements UV (Cohen, 2002; Hale, 2003).

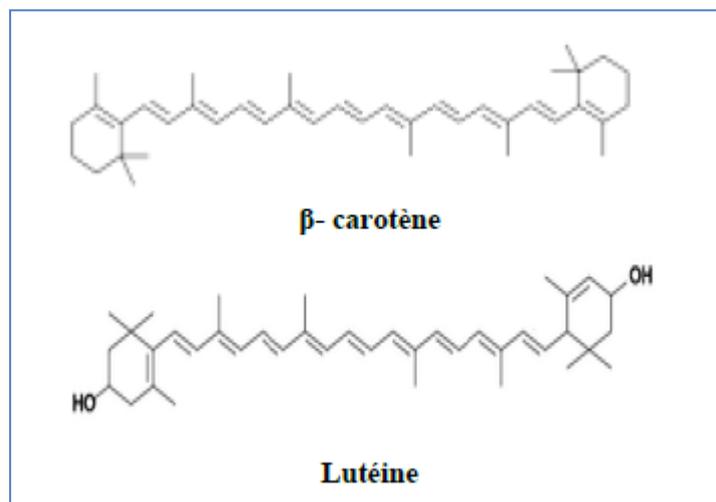


Figure 20: Structure de quelques caroténoïdes (Roberfroid, 2002).

D- Les flavonoïdes

Ce sont des polyphénols naturels contenus sous forme de dérivés glucosidiques dans de nombreux fruits et légumes. Il en existe de nombreuses structures (plusieurs milliers de composés dans la nature) que l'on peut classer en différents groupes selon leur structure de base et les substituants : flavones, flavonols, flavonones, isoflavones et flavanols ou catéchines (Roberfroid, 2002)(Figure 21). Les flavonoïdes exercent leur activité

antioxydante par l'inhibition des enzymes ou par la captation des restes des métaux producteurs de radicaux libres et/ou la stimulation des enzymes antioxydants (**Montoro *et al.*, 2005**).

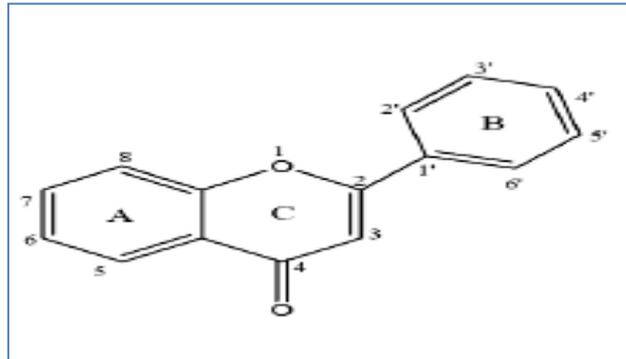


Figure21:Structure générale des flavonoïdes (**Middleton *et al.*, 2000**).

A decorative frame with a thick black border. The frame has a slightly irregular, hand-drawn appearance. At each of the four corners, there is a small black square containing a white, stylized floral or starburst motif. The text "Partie pratique" is centered within the frame.

Partie pratique

Matériels et méthodes

I. Matériels

I.1. Matériel animal

Le matériel biologique de base dans notre étude est le rat blanc mal *Rattus rattus* de la souche Wistar au nombre de 28 rats, provenant de l'institut Pasteur d'Alger âgés de 06 à 08 semaines pesant environ 220-260g.. Ces rongeurs sont des mammifères nocturnes, Il possède une large tête, de petites oreilles, des yeux rouges globuleux et un longue queue, Largement utilisés dans divers domaines de la recherche expérimentale.



Figure 22 : Les animaux de l'expérimentation (photo personnel)

I.2. Matériel végétal

La plante utilisée dans ce travail expérimental est une espèce médicinale appartenant à la famille des Ephedraceae, qui est l'*Ephédra alata alenda* et comme sa partie aérienne est la plus utilisée par les herboristes, se fut elle qu'on a choisie pour cette étude expérimentale. La plante étudiée a été récolté en Décembre 2020.



Figure 23 : Photo originale de l'espèce végétale *Ephedra alata* a partir du site de récolte.

I.2.1. Site de prélèvement

Les échantillons de la plante ont été prélevés à partir d'un site de la région d'Oued Alenda situé à 33°14'08" Nord et 6°45'33" Est. Le site fait partie de la wilaya d'El Oued localisée au Sud Est Algérien (Figure 24).

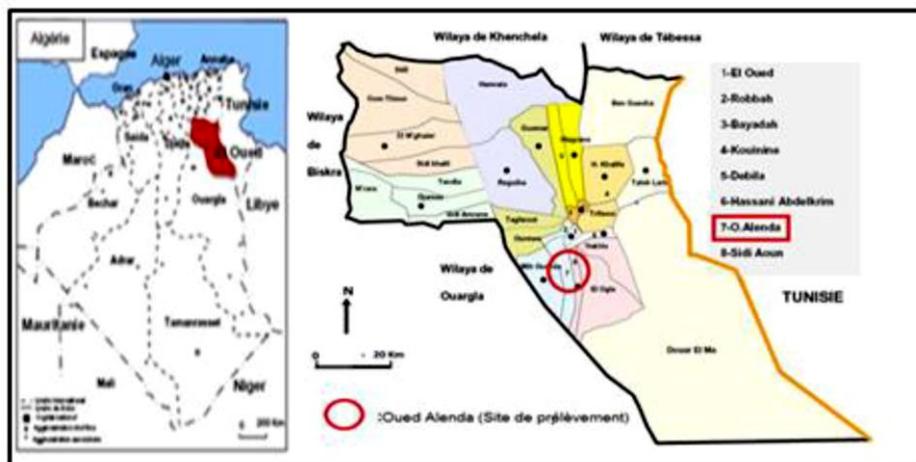


Figure 24 : Localisation géographique de la zone d'étude (Oued Alenda, wilaya d'El Oued). (P.D.A.U.wilaya d'El Oued 1997).

I.2.2 Séchage

Après la récolte, le matériel végétal est débarrassé des débris. Pour s'assurer de la Bonne conservation des échantillons, Le séchage est fait à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité avec agitation continue pour l'aérer et éviter la pourriture pendant 15 jours Jusqu'à ce qu'il soit complètement sec.



Figure 25: Séchage de la matière végétale.

1.2.3. Broyage

Nous avons d'abord coupé l'échantillon sec en petits morceaux pour faciliter le processus de broyage, puis sont broyées finement dans un mortier à l'aide d'un Pilon puis stocké dans des Bocaux fermés hermétiquement et placés à l'abri de la lumière.

Après la récolte, le matériel végétal est débarrassé des débris. Pour s'assurer de la Bonne conservation des échantillons, Le séchage est fait à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité avec agitation continue pour l'aérer et éviter la pourriture pendant 15 jours Jusqu'à ce qu'il soit complètement sec.

1.3. Pesticide

Le pesticide utilisé dans notre travail est le Fenthion [O,O-diméthylque-o (4-methylmercapto)-3-methylphenylthio-phosphate]est l'un des organophosphorés le plus utilisé largement sur un grand nombre de culture contre les ravageurs dans plusieurs pays (**Krieger, 2001**), ilinhibe l'acétylcholinestérase (**Testud et Bougon , 2009**).

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

II. Méthodes

II.1. Entretien des animaux

Les rats ont été répartis en quatre lots à raison de sept (07) rats par lot . Ils ont été soumis à une période d'adaptation de 15 jours dans l'animalerie de département de la biologie, La température ambiante est de 25°C et une photopériode naturelle 12/12H. Les rats sont élevés dans des cages en plastiques et ont un couvercle en acier inoxydable, munies de biberons d'une capacité de 250 ml remplis d'eau, ces derniers sont tapissées d'une couche de litière renouvelés quotidiennement avant le début de l'observation. Les animaux ont été nourris par l'aliment de bataille.

II.2. Choix de la dose

Dans cette étude, nous avons utilisé un pesticide (Le Fenthion) à une faible dose de 1mg/kg/j et l'extrait d'une plante d'*Ephedra alata alenda* a une dose de 300mg/Kg/j, ils ont administrées chroniquement par voie orale chaque jour pendant 30 jours.

Ainsi, quatre lots de rats sont répartis comme suit:

- Le 1^{er} groupe de rats a reçu par gavage de l'huile de maïs (1.5 ml/jour). Il s'agit de **groupes Témoins (T)**.
- Le 2^{ème} groupe de rats a reçu par gavage une solution de l'extrait aqueux de *Ephedra alata alenda* à raison de 300 mg/Kg/j de poids corporel. Il s'agit de **groupes E**.
- Le 3^{ème} groupe de rats a reçu par gavage une solution du Fenthion dans l'huile de maïs à raison de 1 mg/kg/jour de poids corporel (DL₅₀/100). Il s'agit des **groupes F**
- Le 4^{ème} groupe de rats a reçu par gavage l'extrait de *Ephedra alata alenda* (300 mg/kg/PC) et le fenthion (1 mg/kg/PC). Il s'agit de groupes **F+E**

II.3. Préparation des extraits aqueux

II.3.1. Décoction

Pour cette extraction nous avons utilisé la méthode de décoction donnée par les herboristes, et pour cela 5g de la plante sèche est broyées et mélangées avec 100 ml d'eau distillée, une fois l'eau bouillie la température est abaissée jusqu'à diminution du liquide de moitié (50ml). La préparation est filtrée avec du papier Wattman,

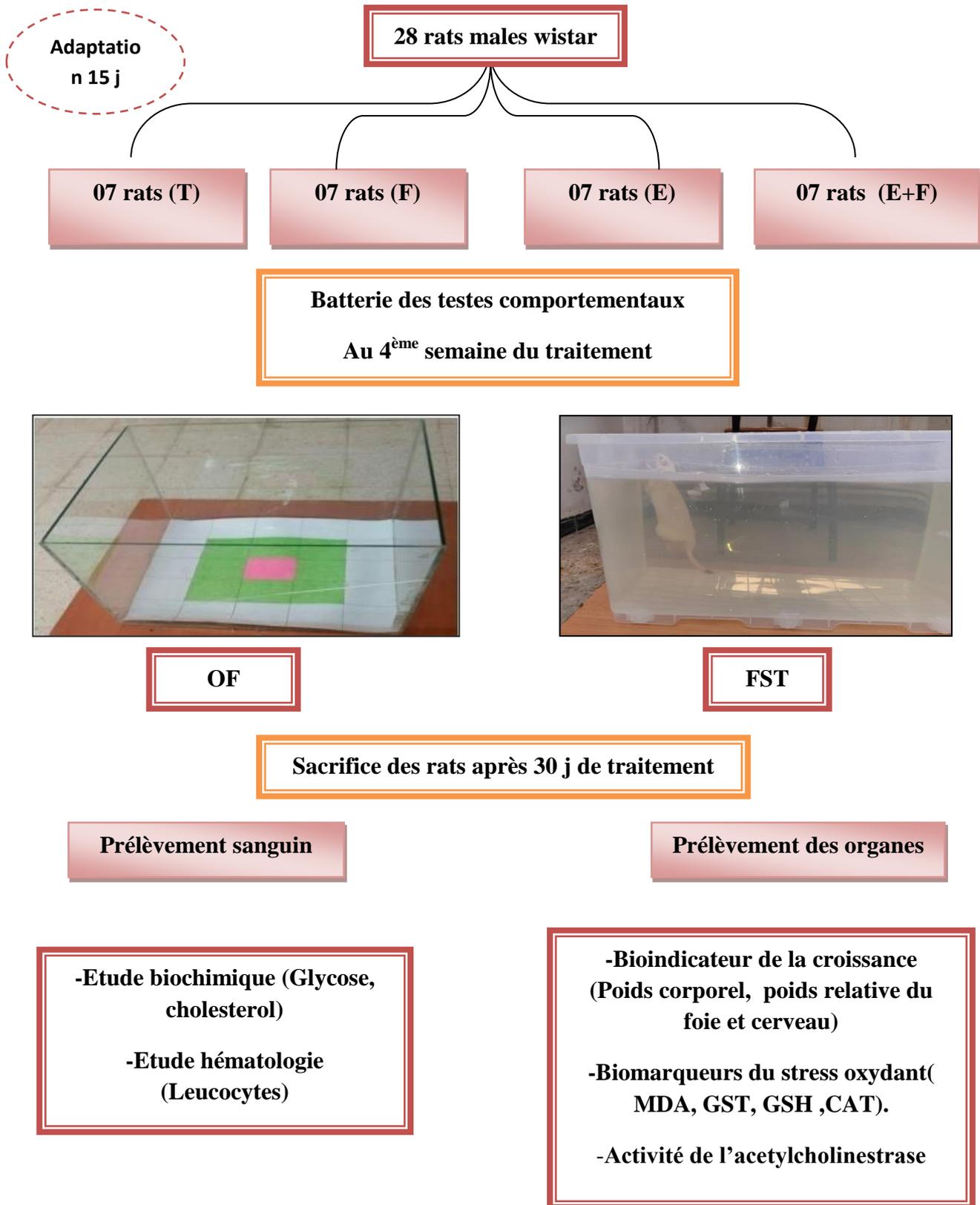


Figure 26: Illustration schématique de l'expérimentation.

II.4. Etude comportementale

II.4.1. Test des champs ouverts(Open Field)

Le test de l'OF, initialement décrit par **Hall (1934)**, a été développé dans le but de mesurer des différences de réactivités émotionnelles chez les rongeurs. L'OF permet donc d'évaluer les comportements ambulatoires ainsi que la néophobie environnementale des rats. Brièvement, l'OF est une unité en plexiglas (70 cm × 70 cm × 40 cm) dont le plancher est divisé en zones centrale et périphérique.

Chaque rat est placé individuellement au centre du compartiment et laissé pendant 5 min d'exploration (**Sáenz et al., 2006**). Un animal anxieux au rat en dace à préférer la zone périphérique tout en évitant l'entrée dans la zone centrale. Chaque session est filmé, La distance totale parcourue, Le nombre de redressements, Le temps passé dans la zone centrale et périphérique et le temps d'immobilité sont mesurés.

Le dispositif est essuyé après chaque session avec une solution alcoolique pour palier aux effets polarisants dus aux odeurs laissées par le rat précédent.



Figure 27 : Photographie du test de l'Open Field.

II.4.2. Test de la nage forcé

Le FST ou Forced swimming test, est un modèle comportemental qui permet de prédire l'efficacité d'un traitement antidépresseur (**Porsolt et al., 1977**). Ce modèle animal, utilise aussi bien chez le rat que chez la souris, présente cependant des différences de procédure selon l'espèce utilisée.

Le test consiste à placer individuellement le rat dans un aquarium de 40 cm de haut sur 30 cm de large. Ces dimensions permettent de s'assurer que le rat ne pourra pas s'enfuir en

s'agrippant aux bordures du dispositif. L'aquarium est rempli d'eau à 25 °C. La hauteur de l'eau atteint 35 cm, pour s'assurer que le rat ne se serve pas de ses membres inférieurs pour se maintenir à la surface, et donc l'obliger à nager (**Figure 28**). Après une phase d'activité vigoureuse (temps d'adaptation), l'animal contrôle cesse de nager et se fige, adoptant un comportement de désespoir. On considère que l'animal est immobile lorsqu'il flotte en position horizontale et ne réalise que des mouvements de faible amplitude, suffisant à maintenir sa tête hors de l'eau.

Le FST se déroule chez le rat en deux phases, le pré-test (FST1) et le test (FST2), séparées par un intervalle de 24 heures au cours duquel le traitement est administré. Lors du pré-test, le rat est placé pendant 15 minutes dans l'aquarium rempli d'eau dont il ne peut s'échapper. À la fin de la session, l'animal est immobile. Le jour suivant, l'animal est replongé dans l'aquarium pendant 5 minutes, période pendant laquelle le temps d'immobilité est enregistré. Un traitement antidépresseur efficace diminue le temps d'immobilité seulement lors du jour du test (**Porsolt *et al.*, 1978 et 1979**). Récemment, une amélioration du test a été validée. Cette modification propose chez le rat, non seulement d'évaluer l'immobilité posturale, mais aussi les deux comportements actifs impliqués directement dans la diminution de cette immobilité, à savoir la nage et l'escalade. Les variables mesurées sont : temps d'immobilité (seconde), temps de la nage (seconde), temps d'escalade (seconde).



Figure 28 : Dispositif du test de la nage forcée.

II.5. Prélèvements

II.5.1. Prélèvement sanguin

Le prélèvement du sang est effectué à l'aide d'un tube capillaire d'hématocrite à travers le sinus rétro-orbital au niveau de la veine orbitale des rats anesthésiés au départ par l'éther par voie ophtalmique. Nous recueillons le sang dans un tube hépariné et EDTA pour l' FNS. Nous centrifugeons les tubes héparines à 4000 g/5min. à 4°C. Le sérum obtenu est aliquote et conservé à une température de -20°C jusqu'au moment des analyses biochimiques.



Figure 29 : Prélèvement du veine retro-orbitale.

II.5.2 Prélèvement des organes

A l'issue de la période expérimentale, les animaux sont pesés, sacrifiés puis ouverts ventralement pour le prélèvement des organes. le foie et Le cerveau est prélevé et pesé. et rincer dans le tampon de lavage à froid (NaCl 9%), Puis séchés à basse température (4°C) par un papier semi absorbant et pèses a l'aide d'une balance de précision.



Figure 30 : Dissection et prélèvement des organes.

II.6. Etude des Paramètres hématologiques

La numérotation sanguine a été faite par un automate compteur de type (d'Abacus 380) à 19 paramètres. Pour Estimer les éléments figurés du sang (nombre des globules rouges, le nombre des globules blancs et le taux d'hémoglobines lymphocytes, monocytes, granulocyte, cet analyse est effectuer sur le sang conservé dans des tubes avec EDTA ou héparine ont été déterminés à la fin de l'expérience, le Comptage a été réalisé au niveau du laboratoire Hamdi bacha (Tébessa).



Figure 31: Un automate d'Abacus 380 à 19 paramètres.

II.7. Etude des paramètres biochimiques

a. Mesure de la Glycémie

➤ Principe

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

➤ Mode opératoire

- Le lecteur se met en marche automatiquement par simple insertion de la bandelette Réactive Accu-Chek (dans le sens des flèches et jusqu'à la butée).

- Le symbole d'une goutte clignote.
- Déposer la goutte de sang sur la zone de dépôt orange de la bandelette. Le résultat s'affiche en 5 secondes. La glycémie est donnée en g/dl.

b. Mesure du Cholestérol

➤ Principe

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

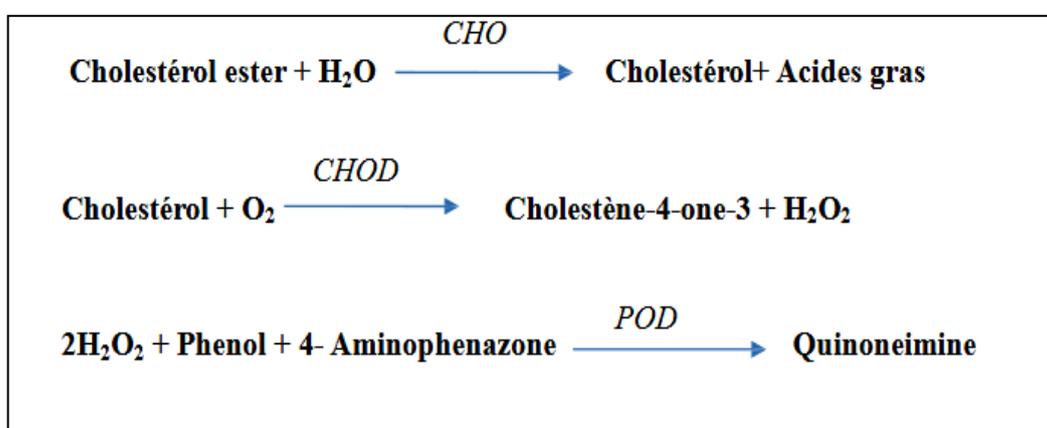


Tableau 04 : Réactifs utilisés dans le dosage de cholestérole.

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

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

4-Echantillon: Plasma.

Tableau 05 : Réactifs de travail

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

➤ **Mode opératoire**

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

Calcul de la concentration:

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

A: Densité optique

II.8. Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) cérébral

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

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

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

0.779 : longueur en cm du puits

II.9. Evaluation des paramètres du stress oxydant cérébral.

a. Préparation de l'homogénats des organes : Pour préparer l'homogénats, 1g du cerveau est broyé dans la solution de TBS (Tris 50 mM, NaCl 150m M, pH 7.4) jusqu'à l'obtention d'une solution homogène pour chaque rat. L'homogénat est centrifugé à 3000 t/min pendant 15 minutes. Le surnageant obtenu est récupéré puis conservés à $-20^{\circ}C$. Cette surnageant est utilisé pour le dosage des paramètres de stress oxydatif et dosage de l'acetylcholine

b. Dosage des protéines tissulaires : Les protéines tissulaires ont été déterminés suivant une méthode colorimétrique par un spectrophotomètre en utilisant le bleu de Comassie qui est réagi avec les groupements amines ($-NH_2$) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines). L'absorption est mesurée à 595nm (Bradford, 1976).

c. Mesure du malone-dialdehyde (MDA)

➤ Principe

Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique. La réaction entraîne la formation d'un complexe de couleur rose entre deux molécules d'acide thio-barbiturique qui peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 532 nm (Yagi, 1976).

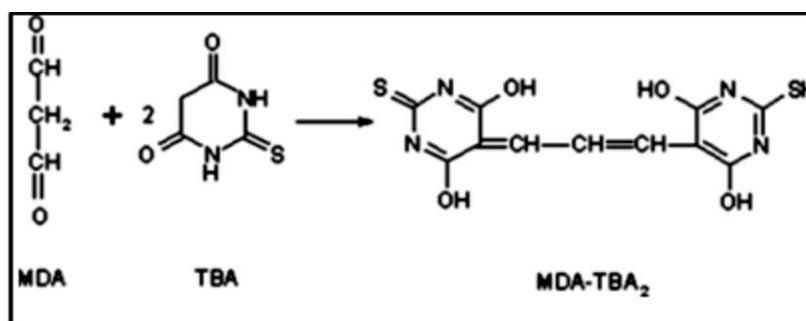


Figure 32 : Figure représentant le mécanisme réactionnel de l'MDA (Ligor et al., 2011).

➤ **Protocol**

Pour le réactif, 20g d'acide trichloroacétique (TCA); 375 mg d'acide thiobarbiturique (TBA); 0,01g de Butylhydroxytoluène (BHT); 25 ml de Chlorure d'hydrogène (HCl) 1N et 50 ml d'eau distillée ont été introduit dans un bécher. La solution obtenue a été chauffée à 40°C dans un bain Marie de type Nuve NB9, jusqu'à dissolution complète du TBA, puis transférée dans une fiole de 100 ml et complété le volume par l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

Le dosage du MDA se fait par prélèvement de 100ul d'échantillon (homogénat) et 400ul de réactif TBA dans des tubes à essai en verre qui seront fermé hermétiquement et chauffer au bain Marie à 100° C pendant 15 minutes, puis refroidis dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction. Après centrifuger à 3000 tr/mn pendant 5 minute, l'absorbance du surnageant est déterminée à une longueur d'onde de 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre .

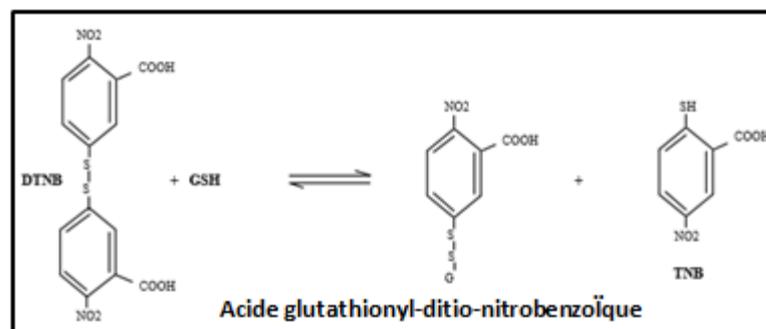
La concentration de la substance réactive à l'acide thiobarbiturique (TBARS) a été déterminée en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du MDA ($\epsilon = 1,53 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Les résultats ont été exprimé en μmol .

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

d. **Activité du glutathion réduit (GSH)**

➤ **Principe**

Le dosage de l'activité du GSH est déterminé par la méthode colorimétrique de Wechberker et Cory (1988). Le principe est basé sur la réaction d'oxydation du GSH par l'acide 5, 5'- Dithiobis 2 nitrobenzoïque (DTNB) qui libère l'acid thionitrobenzoïque (TNB) ce dernier présente une absorbance à 412nm.



Figures 33: le mécanisme réactionnelle du GSH (Baker, 1990).

➤ **Protocol**

A l'aide d'un agitateur de type IKA VORTEX GENIUS 3, on mélange 0.8 ml d'homogénat et 0.2 ml d'acide salicylique (0.25%), le mélange est plongé dans un bain de glace pendant 15 min, puis centrifugé à 1000 tours/min pendant 5 min. 0.5ml de surnageant est prélevé et ajouté à 1ml du tampon tris/EDTA (0,02 M, pH 9,6) [63,04 g tris, 7,4448 g EDTA, 1000 ml eau distillée] et 0,025 ml de DTNB (0,01 M) [3,96 g DTNB, 1000 ml méthanol absolu]. Après 5 min à température ambiante l'absorbance est déterminée à une longueur d'onde de 412 nm l'aide d'un spectrophotomètre contre le blanc (eau distillé). La concentration du GSH est estimée selon la formule suivante :

$$\text{GSH} = \left(\frac{DO}{13.1} \times \frac{Vd}{Vh} \times \frac{Vt}{Vs} \right) / \text{mg de protéines}$$

GSH : Micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines (nM / mg de protéines).

Do : La lecture d'absorbance par le spectrophotomètre.

13,1 : Coefficient d'extinction molaire concernant le groupement thiol (-SH).

Vd : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation : 1 ml [0,2 ml ASS + 0,8 ml homogénat].

Vh : Volume de l'homogénat utilisé dans la déprotéinisation : 0,8 ml.

Vt : Volume total dans la cuve : 1,525 ml [0,5 ml surnageant + 1 ml tris/EDTA + 0,025 ml DTNB].

Vs : Volume du surnageant dans la cuve : 0,5 ml

e. Activité du catalase (CAT)

➤ **Principe**

Ce dosage a été effectué selon la technique décrite par **Aebi (1984)**. Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus. Ce sont des enzymes tétramériques. Chaque unité porte une molécule d'hème et une molécule de NADPH. L'activité catalase (CAT) a été mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre par les variations de la densité optique consécutives à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Les résultats sont exprimés en µmol de H₂O₂ par minute et par mg de protéines.

➤ **Protocole**

Pour un volume final de 1 ml, le mélange réactionnel est constitué de tampon phosphate (0,1M, pH 7) et de 100 µl d'extrait enzymatique. La réaction est initiée par addition de 100 µl de H₂O₂ à 0,5 mM. La vitesse de décomposition de H₂O₂ est déterminée en mesurant la

diminution de l'absorbance à 240 nm pendant 1 min. L'activité du CAT est exprimée en unités internationales (U.I.) c'est-à-dire en $\mu\text{moles d'H}_2\text{O}_2$ détruites/min/mg de protéines.

$$\mathbf{L'activité\ de\ la\ catalase = \Delta DO / (\epsilon.L.X.Fd)}$$

Avec :

- ΔDO : variation de la densité optique par minute (A1-A2) .
- ϵ : coefficient d'extinction $0.043\ \text{mM}^{-1}\ \text{cm}^{-1}$.
- L : largeur de la cuve en cm .
- X : quantité des protéines en mg/ml .
- Fd : facteur de dilution par le H_2O_2 dans le tampon phosphate.

II.10. Analyse statistique : Les résultats sont présentés sous forme de moyenne plus ou moins l'écart-type ($m \pm s$) et illustrés par des tableaux et histogrammes. Le traitement statistique des résultats est exploité en réalisant une analyse de variance à un facteur contrôle (ANOVA), le test de Tukey a été utilisé pour comparer les groupes traités avec le groupe témoin. et avec le groupe fenthion Toutes les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel statistique Minitab 17.1 et Excel 16.0 (Microsoft, Inc.). Le niveau de signification statistique était fixé à $p < 0,05$.

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

*** : Différence très hautement significative.

A decorative frame with a thick black border. The frame has a slightly irregular, hand-drawn appearance. At each of the four corners, there is a small square inset containing a white, stylized floral or starburst motif. The word "Résultats" is centered within the frame.

Résultats

2. Résultats

2.1. Etude des paramètres biologiques

2.1.1. Effet du Fenthion et l'Ephédra alata sur l'évolution pondérale

Nos résultats montrent une diminution du poids corporel chez les lots traités aux fenthion, Ephedra et traitement combinée comparativement au lot témoin.

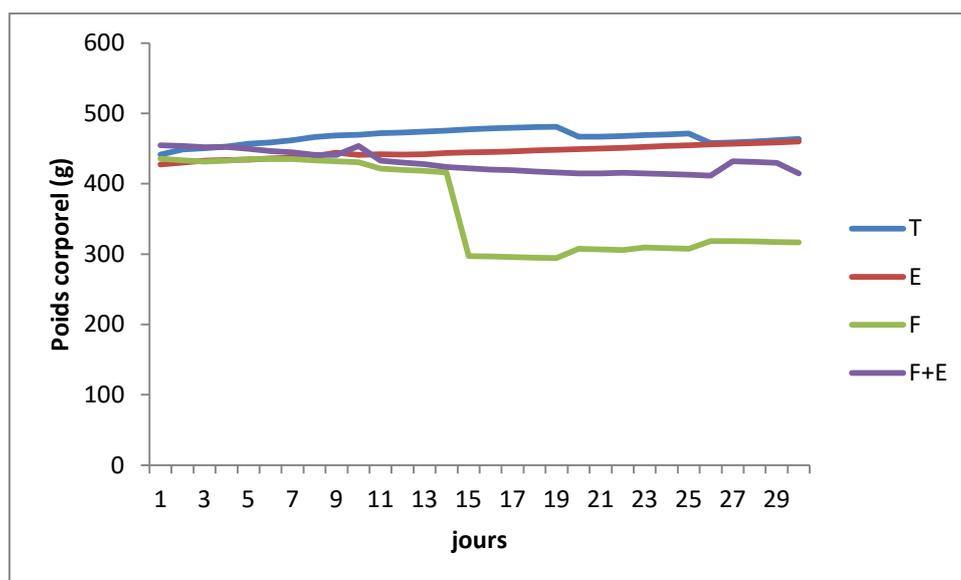


Figure 34 : Variation du poids corporel chez rats témoins et les rats traités.

2.1.2. Effet du fenthion et l'Ephedra alata sur les poids relatif de certains organes

Nos résultats mettent en évidence l'évolution des poids relatif (PR) du foie et du cerveau chez les rats témoins et les rats traités. Concernant le poids relatif du foie, les résultats obtenus montrent qu'il y a eu une augmentation significative ($p \leq 0.01$) chez les groupes traités par le fenthion comparativement au groupe témoin. Par contre, une diminution non significative a été remarquée chez les rats traités par l'Ephedra par rapport au témoin.

Concernant le poids relatif du cerveau, nos résultats montrent une diminution significative chez le lot traité par le fenthion comparativement au lot témoin et non significative chez les autres lots.

Tableau 06 : Variation du poids relatif du foie et du cerveau chez le lot témoin et les lots traités.

Poids relatif des organes (g/100g du poids vif)	T	F	E	F+E
Poids relatif du foie (g/100g)	1,958 ± 0,221	2,259± 0,187 a**	1,729 ± 0,249 a ^{ns}	1,753± 0,165 a ^{ns} , b***
Poids relatif du cerveau (g/100g)	0,441 ± 0,054	0,381 ± 0,034 a*	0,407± 0,039 a ^{ns}	0,418 ± 0,049 a,b ^{ns}

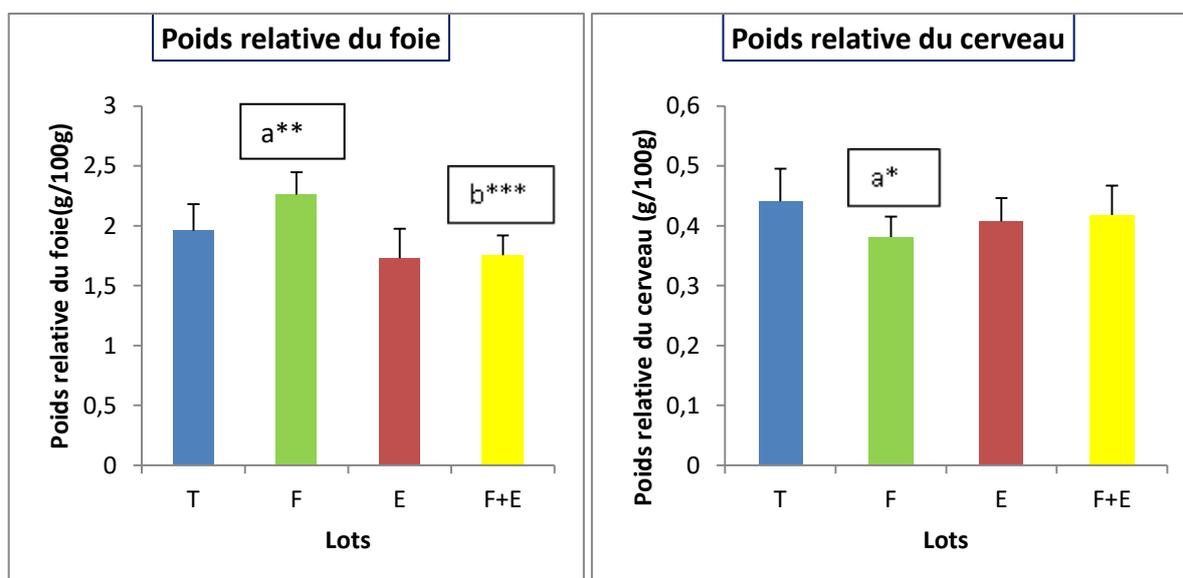


Figure 35 : Variation du poids relatif du foie et du cerveau chez le lot témoin et les lots traités.

($p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; ns : non significative (comparaison a vs T; b vs F, $n=7$)).

2.2. Etude des paramètres hématologiques

2.2.1. Effet du fenthion et Ephedra alata sur la population leucocytaire.

Nos résultats montrent que les rats traités au fenthion montrent une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) des leucocytes totaux comparativement aux témoins. En

addition, les rats seulement traités à l'Ephedra montrent aussi une augmentation mais n'as pas significative. Cependant, un traitement combiné a allégé cette leucocytose.

Les rats traités au fenthion montrent une augmentation hautement significative ($p < 0.05$) du taux de lymphocytes comparativement aux témoins. Cependant un prétraitement à l'extrait de l'Ephedra à atténué cette lymphocytose.

Concernant le taux des monocytes, les rats traités au fenthion montrent une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) par rapport aux témoins, cependant, le traitement combiné a prévenu remarquablement cette monocytose.

Les rats traités au Fenthion montrent une diminution hautement significative ($p < 0.01$) des éosinophiles. Cependant, un prétraitement à l'extrait de l'Ephedra à prévenu remarquablement cette diminution.

Tableau 07 : Variation du profil leucocytaire chez les rats témoins et traités.

Paramètres/lots	T	F	E	F+E
GB ($10^3/mm^3$)	6,060 ± 0,973	7,696 ± 1,214 a**	6,371 ± 0,725 a ^{ns}	7,423 ± 1,301 a*, b ^{ns}
LYM ($10^9/l$)	7,013 ± 1,027	9,303 ± 2,318 a*	7,064 ± 1,915 a ^{ns}	7,037 ± 1,114 a ^{ns} , b ^{ns}
MON ($10^9/l$)	0,528 ± 0,052	0,680 ± 0,080 a**	0,538 ± 0,054 a ^{ns}	0,597 ± 0,070 a ^{ns}
EOS ($10^{12}/l$)	1,795 ± 0,061	0,6443 ± 0,3424 a**	1,604 ± 0,112 a*	1,016 ± 0,303 a**, b ^{ns}

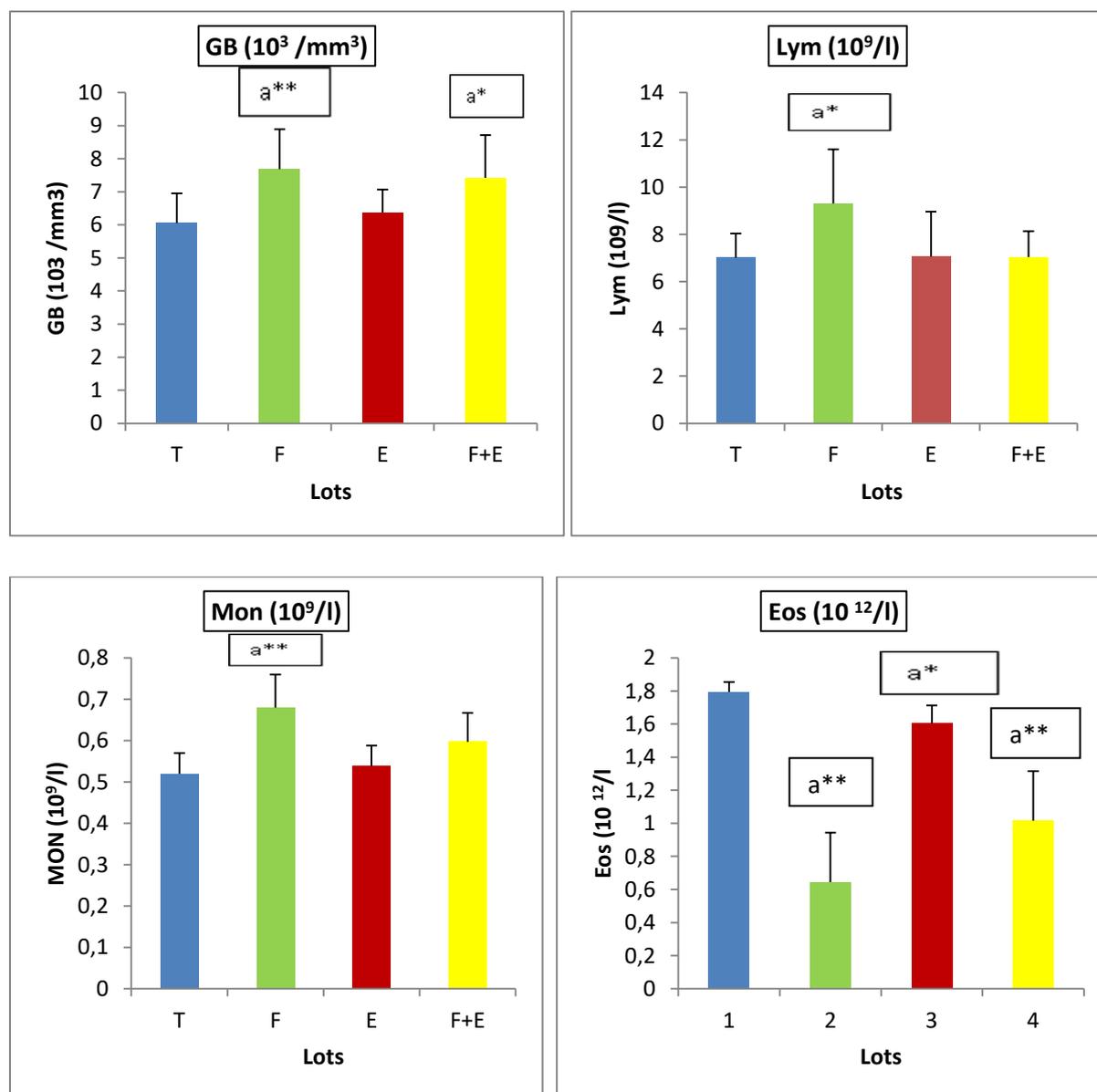


Figure 36 : Variation du profil leucocytaire chez le lot témoins et les lots traités

($p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; ns : non significative (comparaison : a vs T; b vs F, $n = 7$)).

2.3. Etude des paramètres biochimiques

2.3.1. Effet du fenthion et l'Ephedra alata sur la concentration plasmatiques du glucose et du cholestérol.

D'après les résultats obtenus, on observe une augmentation non significative de la concentration plasmatique en glucose chez les lots traités par l'Ephedra et une augmentation significative chez le lot traité par le fenthion ($p < 0.05$) et lot de combinaison Fenthion+ Ephedra ($P < 0.01$) comparativement au lot témoin.

Concernant le taux du cholestérol, nous avons enregistré une diminution significative ($P < 0.01$) chez le lot traité par l'extrait de l'Ephedra par rapport au témoin et une augmentation significative chez les lots traités par le fenthion ($P < 0.01$) comparativement au témoin.

Chez le traité par l'Ephedra +fenthion, une diminution significative a été remarquée ($p < 0.05$) par rapport le lot fenthion.

Tableau 08 : Variation de la glycémie et du cholestérol chez le lot témoin et les lots traités.

Paramètres/lots	T	F	E	F+E
Glycémie (g/l)	1,095 ± 0,053	1,237 ± 0,154 a*	1,100 ± 0,062 a ^{ns}	1,285 ± 0,162 a**, b ^{ns}
Cholestérol (mg/dl)	0,740 ± 0,079	1,192 ± 0,375 a**	0,578 ± 0,075 a**	0,808 ± 0,197 a ^{ns} , b*

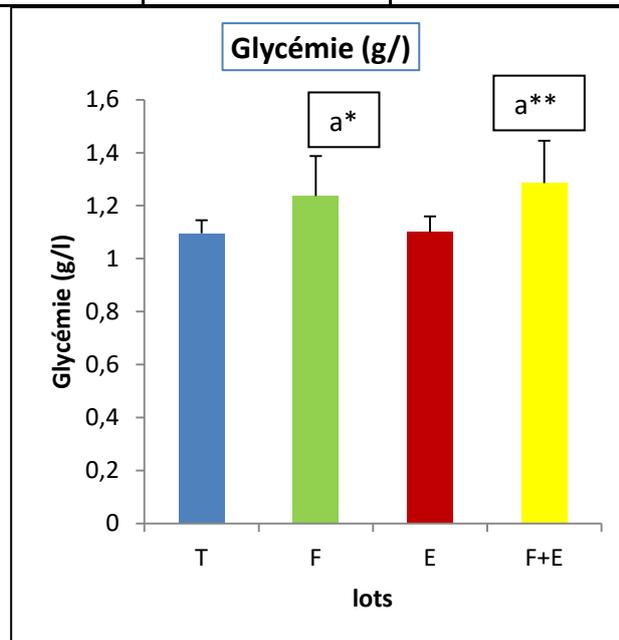
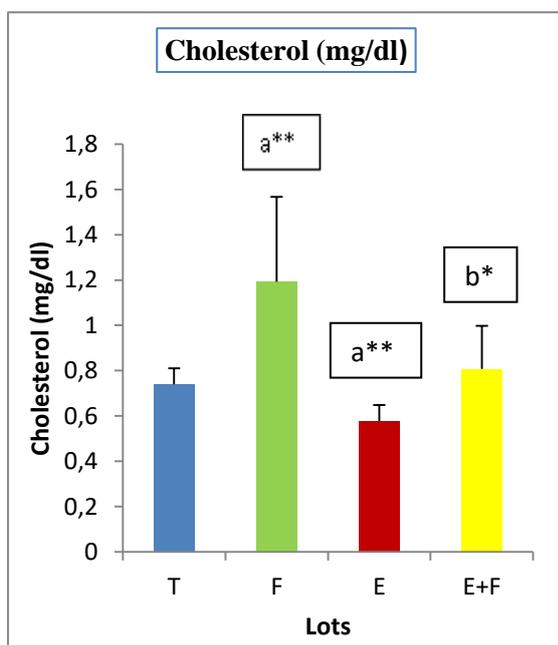


Figure 37 : Variation de la glycémie et du cholestérol chez le lot témoin et les lots traités.

($p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; ns : non significative (comparaison : a vs T; b vs F, n=7))

2.3.2. Effet du fenthion et d'Ephedra alata sur l'activité cholinestérasique

Nos résultats montrent une diminution significative ($p < 0.01$) de l'activité cholinestérasique chez le lot du fenthion ($p < 0.01$) et lot de combinaison ($p < 0.05$) et non significative par l'Ephedra ($p < 0.05$) comparativement aux témoins.

Tableau 09 : Variation de l'activité cholinestérasique cérébrale chez les rats témoins et traités.

Parameters/lots	T	F	E	F+E
Acetylcholine(nmol /min/mg protéines)	0,061 ± 0,026	0,022 ± 0,010 ** a	0,054 ± 0,020 a ^{ns}	0,033 ± 0,01 *a, b ^{ns}

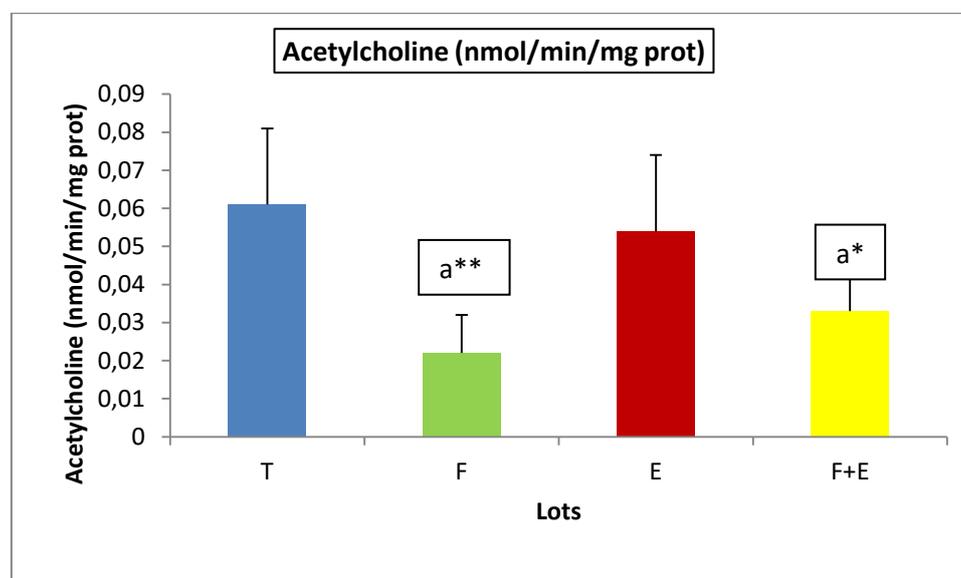


Figure 38 : Variation de l'activité cholinestérasique cérébrale chez les rats témoins et les rats traités.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; ns :non significative (comparaison : a vs T ; b vs F, n=7).

2.4. Effet du Fenthion et d'Ephedra alata sur le statut redox cérébral

a. Taux du malondialdéhyde (MDA)

Nous avons constaté une élévation significative de l'MDA cérébral ($p \leq 0.01$) chez les rats recevant le fenthion par rapport au groupe témoin, par contre le traitement par la plante a atténué significativement cette élévation comparativement avec le groupe fenthion ($p \leq 0.05$).

b. Activité de la glutathion –S- transférasse (GST)

L'analyse statistiques de nos résultats montrent une diminution significative ($p < 0.01$) de la glutathion-s-transférase (GST) chez le lot fenthion, et une augmentation significative chez le lot traité par l'Ephedra (pL'analyse statistiques de nos résultats montrent une diminution significative ($p < 0.01$) de la glutathion réduit (GSH) chez le lot fenthion et une augmentation significative chez le lot traité par l'Ephedra ($p < 0.05$) comparativement aux témoins.

Intéressement, le lot de traitement combine E+F a modulé significativement ($p < 0.05$) cette diminution de la GST comparativement au lot Fenthion (0.05).

c. Activité de glutathion réduit (GSH)

L'analyse statistiques de nos résultats montrent une diminution significative ($p < 0.01$) de la glutathion réduit (GSH) chez le lot fenthion et une augmentation non significative chez le lot traité par l'Ephedra comparativement aux témoins.

Intéressement, le lot de traitement combine E+F a modulé significativement ($p < 0.05$) cette diminution de la GST comparativement au lot Fenthion.

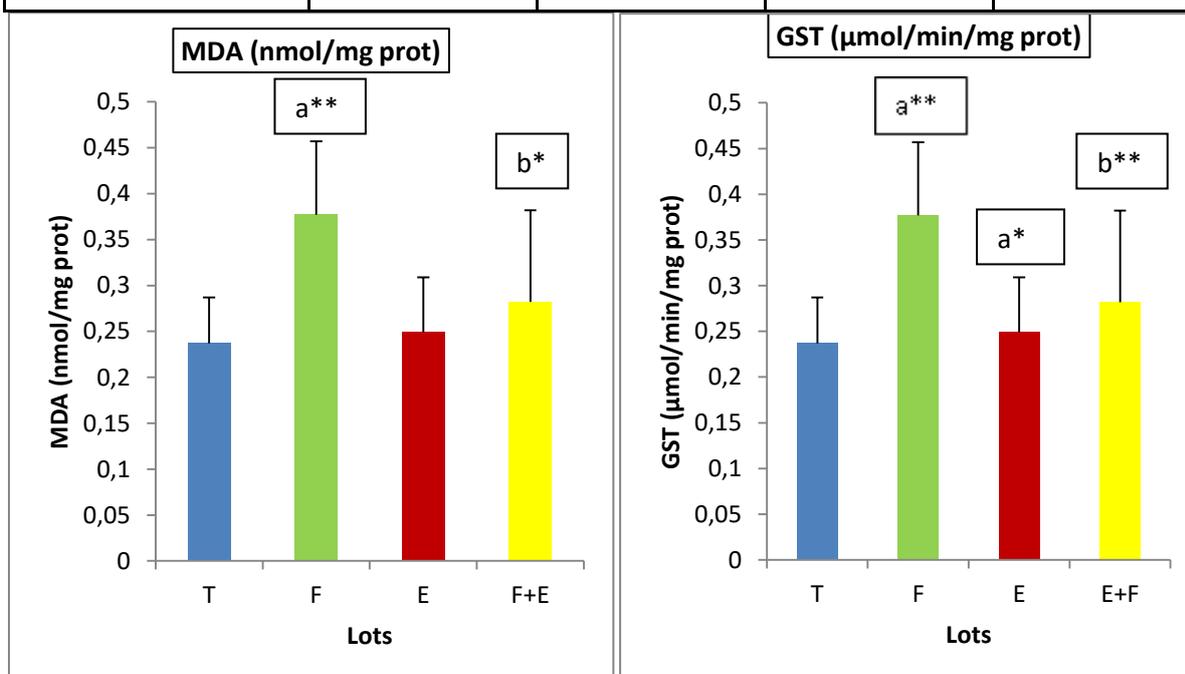
d. Activité de catalase (CAT)

L'analyse statistiques de nos résultats montrent une diminution significative ($p < 0.01$) de la catalase (CAT) chez le lot fenthion et une augmentation non significative chez le lot traité par l'Ephedra comparativement aux témoins.

Intéressement, le lot de traitement combiné (E+F) a modulé significativement ($p < 0.05$) cette diminution de la GST comparativement au lot Fenthion.

Tableau 10: Variation du taux de l' MDA, GST, GSH et CAT cérébraux chez le lot témoin et les lots traités.

Paramètres/lots	T	F	E	E+F
MDA (nmol/mg prot)	0,237 ± 0,054	0,377 ± 0,083 a**	0,249 ± 0,064 a^{ns}	0,282 ± 0,107 a^{ns}, b*
GST (nmol/min/mg port)	0,213 ± 0,075	0,123 ± 0,010 a**	0,288 ± 0,049 a*	0,205 ± 0,071 a^{ns}, b**
GSH (nmol/mg prot)	0,373 ± 0,096	0,191 ± 0,079 a**	0,396 ± 0,070 a^{ns}	0,257 ± 0,030 A**, b*
CAT (nmol/min/mg port)	0,223 ± 0,104	0,103 ± 0,071 a**	0,24 ± 0,18 a^{ns}	0,133 ± 0,04 a*,b*



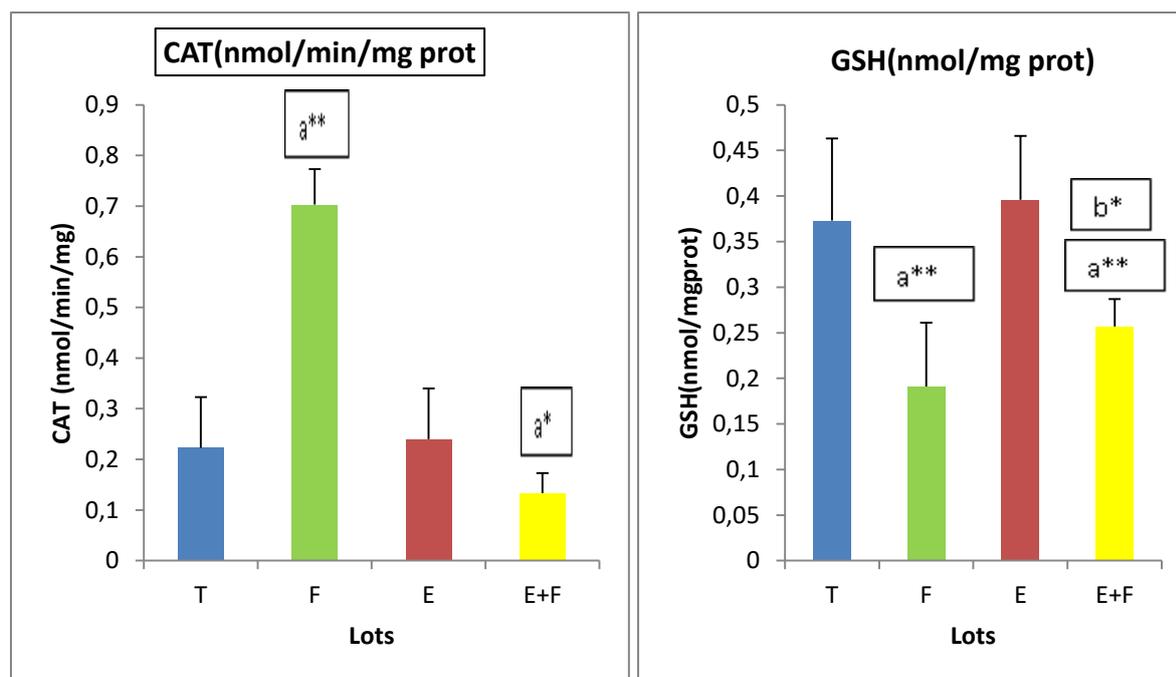


Figure 39 : Variation des GST, GSH et CAT chez le lot témoin et lots traités.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; ns : non significative (comparaison : a vs T ; b vs F, $n=7$).

2.5. Etude comportementale

2.5.1. Effet du Fenthion et *Ephedra alata alenda* sur les paramètres du teste des champs ouverts.

L'analyse statistique des différentes variables mesurées dans ce test a révélé une différence significative entre les groupes traités. Nous avons noté une diminution significative dans les groupes traités par fenthion par rapport au groupes témoins en ce qui concerne la distance totale parcourue ($p < 0.001$), temps passé au centre ($p < 0.001$) et le nombre d'entrée au centre ($p < 0.01$) et le nombre de redressement ($p < 0.05$). Cependant, le traitement combiné (E+F) a prévenu cette augmentation avec une différence significative ($p < 0.001$) par rapport aux rats traités au fenthion.

Par contre, nous avons enregistré une augmentation significative du temps d'immobilité ($p < 0.001$) et du temps passé au périphérique ($p < 0.001$) comparativement aux témoins. Le traitement combiné fenthion + Ephedra a atténué cette augmentation de manière significative ($p < 0.001$) comparativement au lot fenthion.

Intéressement, aucune différence significative n'a été notée entre les rats du traitement combiné et les rats témoins.

Tableau 11: Variation des paramètres de l'OF chez le lot témoin et les lots traités.

Paramètres/lots	T	F	E	F+E
Distance totale parcourue (cm)	569,43 ± 132,87	222,00 ± 17,73 a***	631,9 ± 138,5 a ^{ns}	412,0 ± 69,1 a**, b***
Temps d'immobilité (sec)	178,83 ± 4,54	267,71 ± 7,36 a***	170,00 ± 8,81 a*	198,86 ± 11,44 a**, b***
Temps passé dans la périphérie	200,57 ± 6,55	235,57 ± 7,09 a***	202,29 ± 19,85 a ^{ns}	214,71 ± 8,92 a**, b***
Temps passé au centre	32,333 ± 3,327	8,00 ± 2,44 a***	31,714 ± 4,461 a ^{ns}	18,714 ± 6,849 a**, b***
Nombre de redressement	10,286 ± 3,147	6,429 ± 3,155 a*	11,000 ± 2,380 ns	7,143 ± 2,610 ns
Nombre d'entrés au centre	2,428 ± 0,786	1,428 ± 0,534 a**	1,714 ± 0,488 a ^{ns}	1,571 ± 0,534 a, b ^{ns}

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ ns ; non significative (comparaison : a vs T ; b vs F, n=7).

2.5.2. Effet du Fenthion et l'*Ephedra alata alenda* sur les paramètres du teste de la nage forcée

D'après nos résultats, le traitement des rats par le fenthion induit une augmentation significative ($p < 0.001$) du temps d'immobilité comparativement au témoin. Ainsi, le traitement combiné E+F a diminué remarquablement cette augmentation ($p < 0.001$) par rapport le groupe fenthion.

Concernant le temps de nage et d'escalade, les rats traités au fenthion montrent une diminution significative ($p < 0.001$) du temps de nage et d'escalade ($p < 0.001$) par rapport aux témoins. Un traitement à l'*Ephedra* a augmenté remarquablement le temps de nage et d'escalade de manière significative comparativement au groupe fenthion.

Tableau 12 : Variation des paramètres de l' FST chez le lot témoins et les lots traités.

Paramètres/lots	T	F	E	F+E
Temps de la nage (sec)	42,143 ± 11,320	18,714 ± 3,352 a***	66,57 ± 21,27 a*	35,14 ± 12,90 a^{ns}, b**
Temps d'immobilité (sec)	132,00 ± 6,86	226,43 ± 12,53 a***	120,14 ± 20,10 a^{ns}	151,57 ± 36,66 a^{ns}, b**
Temps d'escalade (sec)	44,86 ± 11,20	25,42 ± 4,31 a***	56,86 ± 16,64 a*	35,71 ± 11,97 a^{ns}, b**

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (comparaison : a vs T ; b vs F , n=7)

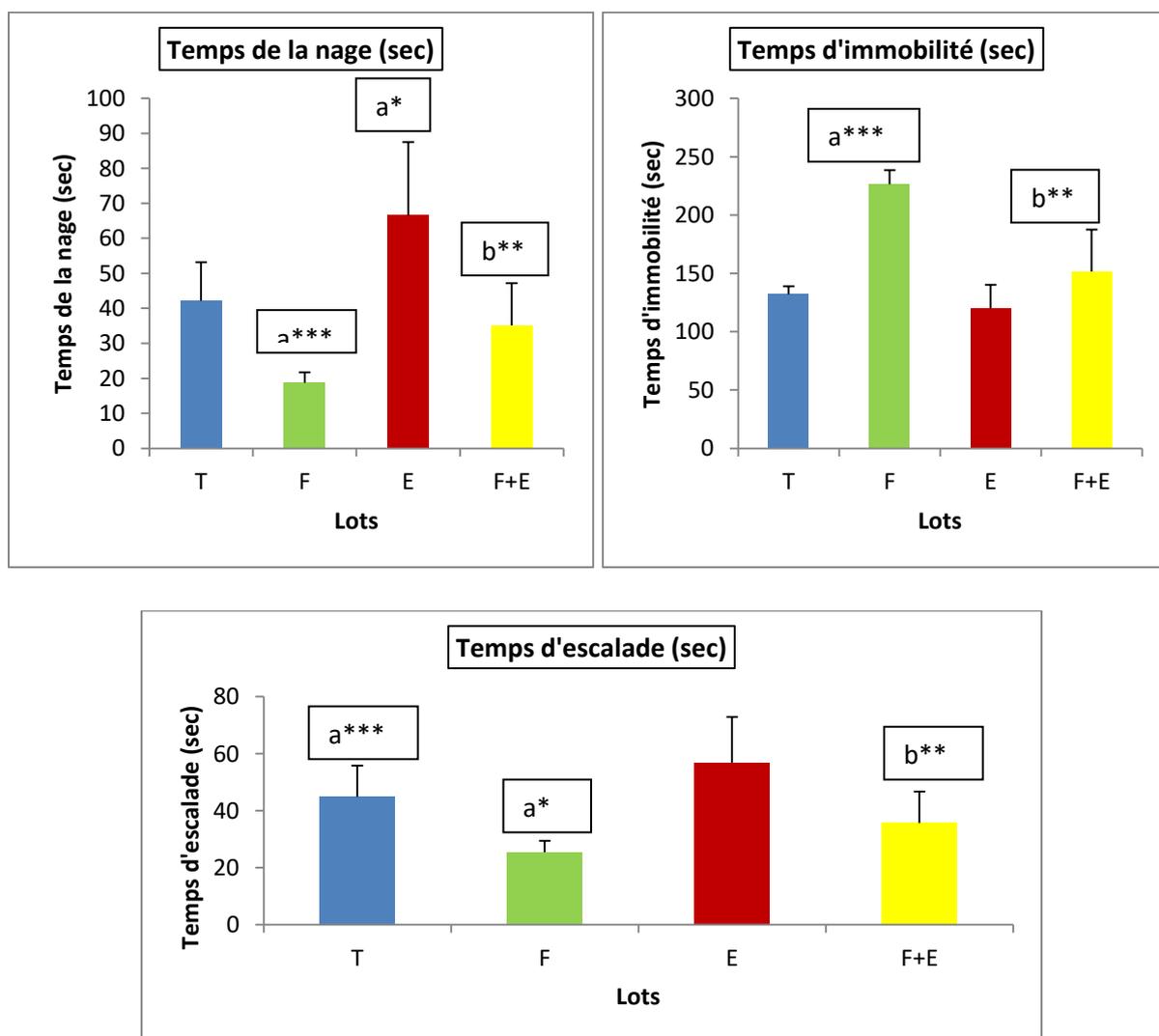


Figure 40 : Effet du fenthion et Ephedra alata sur les paramètres de la nage forcée

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (comparaison : a vs T ; b vs F , n=7).

A decorative frame consisting of a thick black border with a stepped, geometric design. At each of the four corners, there is a small black square containing a white, six-pointed starburst or floral motif. The word "Discussion" is centered within the frame.

Discussion

Discussion

1. Effet du fenthion et l'Ephedra alata alenda sur le poids corporel

Pour déterminer les effets des pesticides sur un individu ou un compartiment d'individu, il est nécessaire de disposer de modèles biologiques représentatifs du milieu étudié (**Druart, 2011**), ces derniers ne sont d'autres que des espèces sensibles aux variations physicochimiques de leur milieu et surtout à toute forme de pollution (eau, sol, atmosphère) dont leur sensibilité vis-à-vis des xénobiotiques variés tels que les pesticides (**Abid, 2016**).

Dans cette étude nous sommes intéressés à l'effet d'insecticide appartenant à la famille des organophosphorés (Fenthion) et l'extrait d'une plante médicinale saharienne (Ephedra alata alenda) sur les paramètres neuro-biologique et biochimiques chez les rats males Wistar.

On remarque, une diminution du poids corporel chez les lots traités par le Fenthion, l'Ephedra et le mélange comparativement au lot témoin. A partir de ces résultats, le pesticide et la plante font diminuer la croissance corporelle par rapport à celle des témoin, cet effet peut être expliquer par leurs actions sur le transport des éléments nutritifs (les acides aminés, le glucose et les minéraux essentiels comme le zinc, le magnésium, le fer...) (**Dieter et al, 1988 ;Cempel et Janicka, 2002**). La réduction du poids corporel peut être le résultat également du phénomène anorexique que les animaux puissent subir avec le temps de l'exposition aux xénobiotiques et l'état de stress dans lequel vivent durant la période de cette exposition (**Viviana, 2015 ; Chakroun et al., 2016**). En plus, la chute corporelle est due en premier à une diminution de la masse grasse suivie de celle de la masse maigre. Elle représente la conséquence ultime d'un déséquilibre de la balance énergétique entre les apports qui sont inférieurs aux dépenses énergétiques (**Ritz et al., 2007**). Nos résultats sont en accord avec des études antérieures réalisées sur des rats adultes traités par des insecticides ont montré également une diminution significative de leurs poids corporels (**El-Demerdash et al., 2004; Saoudi et al.,2011 Medjdoub,2013 Mossa et al, 2014, Anadn et al. (1991) ; Bourbia (2013) ; Bouhali, 2015, Wayland, 2015**). Contrairement à nos résultats, (**Bhaskar et Mohanty 2014**) ont trouvé que la co-exposition au mancozeb et imidaclopride à des faibles doses provoque un gain significatif de poids corporel relatif.

Aussi, l'addition d'Ephédra alata aux rats a engendré une diminution de poids corporel par rapport aux groupes témoins, ce ci est en accord avec l'étude de **Boozer et al. (2001)** qui affirme que l'Ephédra alata alenda favorise la perte de poids. L'effet anti-obésité de l'Ephedra

a été attribué à l'Ephédrine; un alcaloïde majoritaire trouvé dans le genre Ephedra, classé comme un agent thermogénique ayant une fonction de stimulation sur le nerf sympathique. Cet effet stimulant provoque une augmentation du taux métabolique basal qui contribue à la perte de poids (Shekelle et al., 2003 ; Tiss et al, 2020).

2. Effet du fenthion et l'Ephédra alata alenda sur les poids relatif du foie et cerveau

Concernant le foie, Nous remarquons une augmentation de poids relatif de foie chez les rats traités par le fenthion comparativement aux témoins. Ceci est expliqué par l'hypertrophie tissulaire du foie causée par le fenthion d'une part, et par leurs accumulations dans cet organe cible de détoxification d'autre part, aussi l'augmentation de la circulation en raison des demandes accrues pour la détoxification des composés toxiques (Zama et al., 2005). En outre, il désigne l'augmentation de la masse cellulaire ou de la densité cellulaire (Abston et al., 1976). Il a été montré que le xénobiotique a provoqué une augmentation des taux de la bilirubine directe et totale dans le sang, ce qui peut être expliqué par un mauvais fonctionnement du foie qui ralentit leur évacuation dans la bile (Robinson, 1990). Nos résultats sont en accord avec celles de (Bouhali, 2015 ; Wayland, 2015).

Dans notre étude le poids relatif du foie a diminué chez le lot traité par Ephedra et lot de combinaison, ceux-ci pourraient être expliqués par la diminution du poids corporel chez ces lots due à l'accélération du métabolisme de dégradation des lipides sous l'action de l'Ephédra alata (Murray, 1995).

Le foie joue un rôle important dans le métabolisme pour maintenir le niveau d'énergie et la stabilité structurelle du corps. C'est également un site de biotransformation par lequel un composé toxique a été transformé sous une forme moins nuisible en une toxicité réduite. Toute diminution du poids du foie est considérée comme un paramètre de risque sensible, conduisant à une réduction de la toxicité (Hodgson, 2004; Guyton & Hall, 2006 ; Gathwan et al., 2006), c'est ce qui clarifie la diminution de poids relative de foie pour les lots traités par 1mg/kg du fenthion et par 300mg/kg d'extrait aqueux d'Ephedra alata alenda.

Concernant le cerveau, nous avons également observé une diminution du poids relatif du cerveau pour les rats traités au fenthion par rapport aux témoins, cette diminution du poids cérébral peut être due au retard de la maturation neuronale résultant de la rupture vasculaire, ainsi que la baisse du poids des différentes structures cérébrales (cortex, cervelet et hippocampe) pouvant être traduite sur le plan cellulaire par un accroissement de la couche

moléculaire de cervelet, de la densité des cellules granulaires et de l'arborisation dendritique (Sidhu et nehru, 2004, Bouhali, 2015).

3. Effet du fenthion et l'Ephedra alata alenda sur la population leucocytaire

Dans le travail présent, nous avons assisté à une leucocytose, lymphocytose, monocytose et eosinophilie chez les rats traités au fenthion, ces variations peut être due à la libération des catécholamines, hormones de stress, ce qui provoque la démargination des neutrophiles qui est souvent accompagnée par une lymphocytose et parfois par monocytose et éosinophilie (Kandil et al, 2006; Jain, 1993). L'augmentation des lymphocytes et des monocytes est due peut être à la stimulation de la lymphopoïèse et à la libération accrue des lymphocytes de la lymphe du tissu myéloïde (Das et Mukherjee, 2003). Une telle réponse des lymphocytes pourrait être due à la présence de substances toxiques associée à la lésion tissulaire induite par le polluant et la grave perturbation du système immunitaire non spécifique, aboutissant à l'augmentation de la production des leucocytes. Une diminution du pourcentage de neutrophiles dans le sang périphérique observée chez les rats traités au fenthion peut suggérer que les neutrophiles sont impliqués dans la phagocytose au cours d'une intoxication aux xénobiotiques, au cours de laquelle certains neutrophiles pourraient être rompus. Selon des études sur les êtres humains (hommes et femmes) participant à la production de pesticides liquides, une diminution significative a été notée dans le nombre de neutrophiles (Klucinski et al., 1996). Plusieurs travaux ont rapporté la capacité des OP à induire la lymphocytose (Handy et al., 2002 Elsharkawy et al., 2013 ; Omya, 2012 ; Lasrama et al., 2014). Il a été rapporté que l'augmentation des taux des lymphocytes est corrélée avec l'augmentation des cytokines proinflammatoires (Lasrama et al., 2014).

Plusieurs études ont montré que les insecticides organophosphorés peuvent induire des changements immunitaires chez les animaux de laboratoire (Kalender et al., 2006). La moelle osseuse contient également les tissus adipeux qui ont une capacité de stockage élevée et peuvent accumuler les composés lipophiles comme les xénobiotiques (Merhi et al., 2010).

En outre, le traitement à l'Ephedra alata alenda a prévenu les changements des populations leucocytaires, on observe une diminution significative dans les principales cellules immunitaires inflammatoires comme les globules blancs, monocytes et les lymphocytes ceci est due au richesse de notre plante en flavonoides Notre plates riche en flavonoïdes qu'il possèdent un propriétés anti oxydantes et anti inflammatoire (Madhavan et al., 2006). Les flavonoïdes inhibent la migration des leucocytes en bloquant leur adhésion à

la paroi vasculaire (**Manthey, 2000 ; Middleton et al., 2000**). Cet effet serait dû à l'inhibition de la synthèse de l'IL-1 et le TNF-alpha, principaux inducteurs de l'expression des molécules adhésives sur la paroi vasculaires (**Cho et al., 2000**).

Notre plante est riche en flavonoïdes et autre métabolites secondaires qui permet d'inhibition de l'expression des gènes inflammatoires ou à l'augmentation de l'expression des gènes antioxydants (**Schini-Kerth et Stoclet, 2001**),

Dans une étude réalisé par **Youmbai et Chemsal, (2020)**, ils ont trouvé une diminution significative dans les principales cellules immunitaires inflammatoires comme les globules blancs, monocytes et les neutrophiles et dans quelques molécules immunitaires comme Immunoglobuline chez les maladies cancéreuses chimiothérapies traiter par Ephédra alata alenda comparée au maladies cancéreuses chimiothérapies uniquement, ce qui est en accord avec les résultats de l'étude de **Atatra et Bouhdiche (2018)**.

4. Effet du fenthion et l'Ephedra alata alenda sur la concentration plasmatique du glucose et du cholestérol.

Concernant e taux du glucose, on observe une augmentation non significative de la concentration plasmatique en glucose chez les lots traités par l'Ephédra et une augmentation significative chez le lot traité par le fenthion. Ceci est dû a l'effet du fenthion qui actif l'hypothalamus pour produire la corticolibérine (CRH). Ce dernier stimule l'hypophyse pour libérer l'ACTH (hormone adrénocorticotrope) qui est un activateur de glandes surrénales pour la production et la sécrétion de cortisol dans le sang (**Pourramzanzidesaraei et al., 2013**). Le cortisol a de nombreuses actions dont certaines conduisent à l'élévation de la glycémie (**Jacotot et Campillo, 2003**). Plusieurs études ont indiqué que l'hyperglycémie est l'un des effets de l'intoxication aux OP dans le traitement aigu et l'exposition subchronique par la perturbation de la glyco-génolyse et la néogluco-génèse. Il y a des rapports d'incidents de la glycosurie transitoire et l'hyperglycémie chez l'homme après une exposition aiguë aux OP (**Zadig et al., 1983; Shobha et Prakash, 2000**).

Notre plante a provoqué aussi une augmentation mais de manière non significative ceci pourrait expliquer pourquoi cette plante est déconseillée pour les diabétiques (**Fetrow et Avila, 1999**).

Concernant le taux du cholestérol, nous avons enregistré une augmentation significative chez les lots traités par le fenthion comparativement au témoin, cela est expliqué à l'effet du

pesticide sur la perméabilité de la membrane des cellules du foie (Yousef et al, 2006). En outre, l'augmentation des niveaux du cholestérol sérique total peuvent aussi être dû à l'obstruction des canaux biliaires du foie, ce qui réduit ou arrête la sécrétion du cholestérol dans le duodénum (Zaalouk et al., 2000; Ogütçüet al, 2008, Bouhai, 2015) . L'augmentation du taux de cholestérol sérique peut être un signe de dommages du foie.

Une diminution du cholestérol est enregistré chez e lot traité par l'Ephedra alata, cela expliqué par le rôle de l'éphédrine qui augmente le taux du métabolisme réducteur des tissus adipeux, ces résultats concordent avec ceux de Murray, (1990).

5. Effet du fenthion et l'Ephedra alata alenda sur l'activité cholinestérasique

D'après les résultats obtenus dans cette étude, l'exposition des animaux au fenthion induit une diminution de taux de l'Acétylcholinestrase dans le cerveau par rapport les témoins, ceci est due à l'effet inhibitrice du fenthion. Le site cible des divers pesticide, à action neurotoxique est principalement l'acétylcholinestérase. L'inhibition irréversible de l'AChE par les OP conduit à une accumulation de l'acétylcholine dans les synapses neuronales induisant un état de stress cholinergique et ainsi la dépréciation ultérieure de nombreuses fonctions du corps (Bartling et al., 2007). Selon Tandon et al. (1994). Les rats Lang-Evans adultes traités à une seule dose de fenthion (100mg/kg par voie sub-cutanée) ont montré une inhibition forte de l'activité de l'AChE au niveau du cortex préfrontal et rétinale, cette inhibition persistait significative même au jour 56 après le traitement aigu. Dans la même étude, la perte pondérale chez les rats restait en diminution durant la première semaine, ce qui révèle la persistance des effets du Fenthion. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Monteiro et al., (2019), des effets inhibiteurs du fenthion sur l'activité AChE ont été signalés pour d'autres espèces d'insectes et, en tant que modulateur des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine, certaines altérations de l'activité AChE étaient attendues. L'Ache représente un biomarqueur de neurotoxicité habituellement utilisé pour révéler l'exposition aux produits chimiques comme les organochlorées, l'inhibition de l'Ache a été fréquemment utilisée en toxicologie, pour diagnostiquer certains contaminants environnementaux tels que le complexe mélanges de polluants, détergents et métaux lourds.

Dans un modèle développemental, les rats prénatalement exposés au fenthion ont aussi montré une inhibition drastique de l'activité cholinestrasique cérébrale associée aux changements comportementaux, oxydatifs et histopathologiques (Benamara et al., 2014).

Le traitement des rats expose aux fenthion par 'extrait de l'Ephedra alata à augmenter de manière significative le taux de l'acetylcholinestrase par rapport au lot fenthion.

6. Effet du Fenthion et d'Ephedra alata alenda sur le statut redox cérébral

Dans la présente étude, le taux de MDA a été augmenté, tandis que l'activité des antioxydants GST, GSH, CAT au niveau du cerveau ont été réduites dans le groupe traité par le Fenthion. Ces résultats peuvent être expliqué par l'accumulation des radicaux libres, générés par le Fenthion tous se traduit par une peroxydation lipidique dans le tissu nerveux.

Il a été montré que l'exposition aux pesticides peut induire un état de stress oxydant (SO) par la production accrue des radicaux libres qui s'accumulent dans la cellule et l'altération des mécanismes de défense antioxydante ; y compris la détoxification et les enzymes de balayage, ou augmentation de la peroxydation lipidique suite à l'interaction entre les ERO et les membranes cellulaires ou sous-cellulaires (**Abdollahi et al., 2004**). Plusieurs recherches sur des animaux d'expérience ont rapporté que le stress oxydant joue un rôle important dans la toxicité de divers pesticides, y compris les organophosphorés (**Possamai et al., 2007**).

La peroxydation lipidique (LPO) est considérée comme le principal mécanisme moléculaire impliqué dans l'endommagement oxydatif des structures cellulaires. Il s'agit d'une réaction en chaîne initiée par l'extraction d'hydrogène ou l'addition d'un radical oxygène, entraînant l'endommagement oxydatif des acides gras polyinsaturés et la production de nombreux aldéhydes (**Repetto et al., 2012**). Les résultats de la présente étude ont montré que l'exposition des rats fenthion cause l'accumulation de malondialdéhyde (MDA), les principaux produits finaux de la peroxydation lipidique au niveau cytosolique et mitochondrial. L'exposition aux insecticides induit un stress oxydatif (**Abdollahi et al., 2004 ; Chemoendoza et al., 2009**), et le malondialdéhyde est considérée comme un indicateur du stress oxydatif (**Ma et al., 2013, Akande et al., 2014**), qui résultent des dommages des radicaux libres sur les composants membranaires des cellules causant des changements dans la structure et la fonction membranaires et mène à la diminution de la fluidité de la membrane et l'inactivation de plusieurs enzymes membranaires (**Amin et Hashem, 2012; Halliwell et Gutteridge, 1995**). Diverses études indiquent que la production de ROS est un moyen secondaire de la toxicité (**Sidhu et al., 2014**). Nos travaux sont en accord avec les travaux antérieurs des (**Banerjee 1999, Ajay et al.,2005, Khan et al., 2005 ; Hai et al.,1997; Yurumez et al., 2007; Mansour et Mossa 2011;Bouhali, 2015 ; Raina et al.,2015**).

Nos résultats montrent que l'activité des GST, CAT, GSH cérébraux ont été diminuées chez les rats exposés au fenthion. En revanche, on constate une augmentation significative chez le lot traité par l'*Ephedra alata alenda*. La cellule vivante peut se défendre grâce à plusieurs systèmes de détoxification dont le plus important est celui du glutathion qui est un tripeptide jouant un rôle à divers niveaux dans la lutte contre le stress oxydatif (**Kaplowitz et al., 1985 ; Masella et al., 2005**). Ce système enzymatique contient également le glutathion S-transférase qui catalyse la réaction entre le glutathion réduit et les substances étrangères, avec la formation des métabolites glutathion-conjugués (**Saka et al., 2011**). L'augmentation de l'activité de ces enzymes antioxydantes peut servir de mécanisme de compensation supplémentaire pour maintenir l'intégrité de la cellule et la protection contre les dommages des radicaux libres (**Boelsterli, 2007**).

Nous avons observé une restauration des activités des enzymes antioxydantes chez les rats intoxiqués par le fenthion après l'administration des extraits d'*Ephedra alata alenda* qui suggère l'activité antioxydante de cette plante contre les dommages oxydatifs induits par le xénobiotique (**Al-Snafi, 2017, Bourgo et al, 2020**) grâce à sa richesse en flavonoïdes qui sont des composés possédant une large gamme d'activité biologique, y compris les propriétés antioxydantes (**Cao et al., 1997; Williams et al., 2004 ; Karim et al., 2011**) et en Ephédrine qui possède un effet antioxydant (**Sioud et al, 2021 ; Zhu et al, 2020**).

7. Effet du Fenthion et l'Ephédra alata sur les paramètres du test des champs ouverts.

Au niveau de l'OF, nous avons assisté à une diminution de la distance totale parcourue, diminution du nombre de redressements, diminution du temps passé dans la zone centrale et augmentation du temps passé dans la zone périphérique. L'OF est un test utilisé pour mesurer la motricité, le degré d'anxiété et la réaction émotionnelle (**Prut et Belzung, 2003**). Par conséquent, les rats anxieux ont tendance à passer plus de temps dans les coins et la périphérie de l'appareil plutôt que dans le centre (**Elizalde et al., 2008**). La diminution de la distance parcourue dans l'open field révèle la diminution de l'activité locomotrice. De plus, la diminution du nombre de redressements indique une dégradation de l'activité exploratoire. Nous pouvons conclure que le fenthion altère les capacités locomotrices et exploratoires du rat. Ceci est dû à l'inhibition de l'acétylcholinestrase par le fenthion. L'acétylcholine intervient dans le contrôle des muscles par l'intermédiaire des terminaisons neuromusculaires. Apportée en excès au niveau de la plaque motrice, l'acétylcholine peut inhiber les contractions

musculaires consécutives à la stimulation du nerf (**Bocquene, 1996**). Les OP exercent leur toxicité par la fixation de ses oxygènes analogues sur l'acétylcholinestérase (AChE), enzyme neuronale, provoquant ainsi une accumulation de l'acétylcholine endogène dans les tissus nerveux et les organes effecteurs (**Mayer et al., 1991**). En effet, l'accumulation de l'acétylcholine provoque des syndromes nicotiques qui associent des fasciculations musculaires et des crampes, puis une asthénie rapidement croissante par atteinte de la plaque motrice évoluant vers la paralysie des muscles striés (**Bismuth, 1993**). En outre, l'anxiété et la dépression peuvent aggraver l'hypoactivité exploratoire et ambulatoire dans l'OF. Nos résultats sont en accord avec celles de (**Bouhali 2015 ; Virginia,1995 ; Benamara et al, 2014**).

D'après nos résultats, L'hypoactivité des rats traités au fenthion a été bien modulée par l'Ephedra alata , ceci peut être due à l'élévation du taux d'acétylcholine par la plante. Aucun travail dans la littérature examiner son effet sur l'activité locomotrice.

Par ailleurs, les réseaux dopaminergiques du cerveau sont étroitement associés aux comportements d'exploration, à la vigilance, à la recherche du plaisir et l'évitement actif de la punition (**Guedri, 2014**). Les lésions des zones dopaminergiques se traduisent par un désintérêt pour les stimuli de l'environnement et par une diminution du comportement exploratoire (**Couture et al., 2016**). Il a été montré que l'Ephedrine qui est le principe actif de l'Ephedra alata a augmenté les niveaux de dopamine extracellulaire (**Wellman et al, 1998**).

8. Effet du Fenthion et l'Ephedra alata sur les paramètres du teste de la nage forcée.

Au niveau de l'FST, nos résultats montrent clairement une augmentation du temps d'immobilité et une diminution de temps de la nage et d'escalade, indiquant une augmentation de la dépression. Ceci est dû à la dysfonctionnement de la transmission cholinergique induit par le fenthion qui est impliqué dans la physiopathologie de la dépression (**Paykel, 2006**).

Le FST, ou le test de l'efficacité des antidépresseurs représente une situation aversive et stressante où le rat ne peut pas s'échapper et produit l'immobilité, comportement de désespoir (**Porsolt et al., 1977 ; Kirby et Lucki, 1997**). Chez les animaux, l'immobilité est interprétée comme un manque de volonté à survivre et considérée comme un signe de dépression chez la souris et le rat (**Porsolt et al., 1977; Petit-Demouliere et al., 2005**). Dans ce modèle, les rats

ou les souris sont obligés de nager dans un espace confiné; après une tentative d'abord frénétique à s'échapper, ils prennent une posture immobile et le début de l'immobilité est beaucoup plus rapide suite à la nage ultérieure. Cet état a été nommé "désespoir comportemental" selon l'hypothèse de l'abondement des animaux l'espoir d'échappement (**Willner, 1990**). Bien que cette procédure est plus utilisée pour valider les médicaments antidépresseurs.

En effet, Le mécanisme de la dépression est assez compliqué (**Garcia-Alloza et al., 2005**). Bien que la recherche psychobiologique sur la dépression traditionnellement concentré sur les neurotransmetteurs, la noradrénaline et la sérotonine (5-HT), le rôle de l'acétylcholine dans ce comportement émotionnel a été étudié. Les mécanismes de neurotransmetteurs cholinergiques centraux ont été impliqués dans la pathogénèse des troubles dépressifs (**Fritze, 1993; Garcia-Alloza et al., 2005**). D'autres facteurs sont aussi possibles, comme les facteurs comportementaux (comme le cas d'un facteur dépressogène) ou bien physiologiques (par exemple, l'élévation des hormones corticosurrénales) (**Prathiba et al., 2000**). D'autres auteurs ont rapporté les crises dépressives associées au stress oxydatif induites aux organophosphorés (**Gupta, 2001**) ou encore l'action de cet OP comme un agoniste au M2 et/ou M4, sous-ensemble de récepteurs muscariniques dans le cortex préfrontal (**Ward et Mundy, 1996**). Des études récentes indiquent que les radicaux libres de l'oxygène et l'oxyde nitrique peuvent être impliqués dans la dépression en raison des actions de ces molécules sur la fonction des cellules et le taux relativement élevé de la vulnérabilité du système nerveux central au stress oxydatif (**Herken et al., 2007; Eren et al., 2007**). Certaines études ont rapporté une corrélation positive entre le stress oxydatif et la dépression. **Tayaa (2014)** a démontré les effets dépressifs du diazinon suite à l'exposition à court terme chez la ratte Wistar. L'exposition pendant trois jours par voie intrapéritonéale à une faible dose de malathion provoquait des effets dépressifs chez le rat Wistar (**Carmin et al., 2009**).

Par contre, l'administration de l'Extrait de l'Ephedra alata alenda chez les rats exposés au fenthion augmente le temps de la nage et d'escalade ce qui révèle son effet antidépresseur ceci peut être due à l'Ephedrine qui a un effet neuroprotecteur via l'activation de la signalisation de PI3K/AKT et induit l'inhibition de l'apoptose neuronale, le stress oxydant et la réponse inflammatoire (**Li et al, 2007 ; Huang et al. 2021**). Il a été montré que la présence d'une inflammation peut aggraver la dépression, la neuro-inflammation est également signalée à influencer les fonctions neuronales dans la physiopathologie de la dépression (**Maes, 2008**).

De plus, il a été montré que l'Ephedrine augmente le taux de dopamine extracellulaire et peut améliorer de manière significative l'activité autonome des rats (**Wellman et al, 1998**). L'activité dopaminergique est fortement abaissée dans les dépressions de type mélancolique, caractérisée par une diminution de l'activité motrice et de l'initiative et une baisse de la motivation (**Brodie et Opacka, 1985 ; Cameron et al., 1995**).

A decorative frame consisting of a thick black border with four white asterisk-shaped motifs at the corners. The text is centered within this frame.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Nous utilisons les pesticides, mais nous ne connaissons pas l'ampleur du danger qu'ils Représentent pour nos vies et l'environnement dans lequel nous vivons. Ce sont les principaux Causes de nombreuses pathologies.

Dans ce contexte notre sujet c'est intéressé , d'une part à étudier les dommages du Fenthion un sur le fonctionnement du système nerveux et sur les paramètres hématobiochimiques chez les rats, d'autres part, nous nous somme orienter vers l'*Ephedra alata alenda*, une plante médicinale connu par ses propriétés thérapeutiques.

Pour mener à terme notre recherche, des paramètres hématologiques, biochimiques, certains marqueurs de stress oxydant ainsi que le comportement ont été mesurés chez les rats males Wistar.

Les résultats obtenus montrent :

- Une diminution du poids corporelle
- Augmentation du poids relatif du foie et diminution du cerveau
- Désordres comportementaux (Dépression et hypoactivité)
- Stress oxydant qui s'installe au niveau du cerveau
- Perturbation des paramètres hématobiochimiques.

Toutefois, l'addition de l'*Ephedra alata alenda* permet d'améliorer l'ensemble des paramètres mentionné dans cette étude.

D'après nos résultats l'*Ephedra alata* a montré, un effet antidépresseur et antioxydant et régulateur métabolique.

Il serait judicieux de compléter cette recherche par une étude approfondie s'intéressant à:

- L'identification des substances chimique de l'*Ephedra alata alenda* par des méthodes chromatographique telle que le CCM, HPLC, CPGMS.....
- Réalisation des coupes histologiques du cerveau et foie pour mieux identifier les altérations cellulaires causé par le Fenthion
- Tester l'effet antioxydant des extraits végétaux par d'autres méthodes de piégeage : DPPH, FRAP, Caroténoïdes...

A decorative frame consisting of a thick black border with a white inner border. The frame has a stepped, rectangular shape. At each of the four corners, there is a small black square containing a white six-pointed asterisk.

Références Bibliographiques

- **Abdollahi M, Donyavi M, Pournourmohammadi S, Saadat M. (2004).** Hyperglycemia associated with increased hepatic glycogen phosphorylase and phosphoenolpyruvate carboxykinase in rats following sub chronic exposure to malathion. *Comparative Biochemistry Physiology* 137: 247–343.
- **Abourashed EA., El-Alfy AT., Khan IA. et Walker L., (2003).** Ephedra in perspective—a current review. *Phytother. Res.*17:703-712p.
- **Aebi H (1984).** Catalase in vitro. *Methods Enzymol.*105:121-6.
- **Ahlem, M. (2012).** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d’olive *Olea europaea L. Memoire En Biochimie Appliquée*, 87.
- **Ahmad, S., Zia-ul-Haq, M., Imran, M., Iqbal, S., Iqbal, J., & Ahmad, M. (2008).** Determination of residual contents of pesticides in rice (*oryza sativa L.*) CROP from different regions of Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*, 40(3), 1253–1257.
- **Al-Rimawi F., Abu-Lafi S., Abbadi J., Alamarneh A., Sawahreh RA., Odeh I., (2017).** Analysis Of Phenolic And Flavonoids Of Wild *Ephedra Alata*. Plant ExtractsBy Lc/Pda And Lc/Ms And Their Antioxidant Activity. *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines : AJTCAM*, 14(2), 130–141.
- **Al-Sanafi AE., (2017).** Therapeutic importance of *Ephedra alata* and *Ephedrafolita*-A review. *Indo Am. J. P. Sci*; 4(02), 399-406p.
- **Amakura, Y., Yoshimura, M., Yamakami, S., Yoshida, T., Wakana, D., Hyuga, M., Hyuga, S., Hanawa, T. & Goda, Y. (2013).** Characterization of Phenolic Constituents from Ephedra Herb Extract, *Molecules*, 18, 5326-5334. 3.
- **Ameenach G., 2006.** Plantes médicinales: traditions d’hier et drogues de demain, *Molecular aspects of Medicine* 27 (1), 1-93.
- **Anderson, E. J., Katunga, L. A., & Willis, M. S. (2012).** Mitochondria as a source and target of lipid peroxidation products in healthy and diseased heart. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 39(2), 179–193.
- **APVMA (2012a):** Review of the mammalian toxicology and metabolism/toxicokinetics of fenthion. Disponible sur http://www.apvma.gov.au/products/review/docs/fenthion_part_2_toxicology_report.pdf.
- **Atatra A et Bouhdiche L .2018.** Etude phytochimique et Evaluation de l’activité antiinflammatoire d’une plante médicinale : Ephédra alata alenda. Mémoire master. Université guelma.. p61.

- **Badiaga. (2012).** Etude ethnobotanique , phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith , une plante médicinale africaine récoltée au Mali Mamadou Badiaga To cite this version : HAL Id : tel-00719564. *Thesis*, 184.
- **Bagheri-Gavkosh S., Bigdeli M., Shams-Ghahfarokhi M., Razzaghi-Abyaneh M., (2009).** Inhibitory Effects of *Ephedra major* Host on *Aspergillus parasiticus* Growth and Aflatoxin Production. *Mycopathologia*, 168: 249-255p.
- **Baker, M., Cerniglia, G. & Zaman, A. (1990).** Anal. Biochem. Edion mason. France, Paris.P 190.
- **Baldi, I., Mohamed Brahim, B., Brochard, P., Dartigues, J. F. & Salamon, R. (1998).** Effets retardés des pesticides sur la santé: état des connaissances épidémiologiques. Elsevier Masson, Issy les Moulineaux, France. Vol. 46, No2, PP. 134-142.
- **Banerjee, A., Marbach, F., Anselmi, F., Koh, M.S., Davis, M.B., da Silva, P.G., Delevich, K., Oyibo, H.K., Gupta, P., Li, B., Rozemuller, A.J., Hoogland, P.V., Lucassen, P.J., Drukarch, B., van de Berg, W.D., & Van Dam, AM. (2015).** Increase damoeboid microglial density in the olfactory bulb of Parkinson's and Alzheimer's patients. *Brain Pathol.* 24, 152–165.
- **Becker, L.B., (2004).** New concepts in reactive oxygen species and cardiovascular reperfusion physiology. *Cardiovas. Res.* **61**, 461-470.
- **Bell A., Bachman S, (2011).** *Ephedra alata*. The IUCN Red List of Threatened Species. T201688A9165505, The IUCN Red List Partnership. 7p.
- **Bismuth C.** Armes chimiques, description et risques toxiques. Réanim Urgence 1993 ; 2 : 625-33.
- **Blanchet G, Carpentier P, Lallement G. (1991).** Vulnérabilité du système nerveux central vis-à-vis des neurotoxiques organophosphorés. Méd Armées; 19 : 403-7.
- **Blumenthal, M. (1998).** The complete German commission monographs. American Botanical Council, Texas, p: 125-126.
- **Bonnefont-Rousselot, D., Thérond, P., Delattre, J., 2003.** Radicaux libres et anti-oxydants. In Borges, F., Fernandes, E., Roleira, F., 2002. Progress towards the discovery of xanthine oxidase inhibitors. *Curr. Med. Chem.* **9**, 195–217.
- **Bonnefont-Rousselot D., Thérond P., & Delattre J (2003).** Radicaux libres et antioxydants. En : Delattre J., Durand G., Jardillier J-C. Biochimie pathologique. Flammarion, Paris. p317.

- **Bonnefoy, 2013.** Encyclopédie de L'Agora pour un mode durable. In Agora Québec. Brève histoire de l'utilisation des pesticides du soufre au glyphosate en passant par le
- **Boros, B., Jakabová, S., Dörnyei, Á., Horváth, G., Pluhár, Z., Kilár, F., & Felinger, A. (2010).** Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography-mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*, 1217(51), 7972–7980.
- **Bouhali IE (2015).** Etude de l'effet d'un flavonoïde (quercétine) et d'un stilbénol (resvératrol) sur la toxicité induite par le fenthion chez le rat mâle wistar.
- **Boulberhane et Nabti, (2017).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne et l'activité antifongique des deux plantes : *Artemisia compestris* L. et *Ephédra alata* alenda Staph.
- **Bounihi, A. (2016).** *Criblage phytochimique, Étude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de Melissa officinalis et de Mentha rotundifolia (Lamiacées)*. 1–199.
- **Boyer, F. (2016).** *Stress oxydant et pathologie diabétique : impact de l'hyperglycémie et de l'albumine glyquée sur les cellules cardiaques et adipeuses*. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01379536>.
- **Bradford M (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochemistry* 72: 248-254.
- **Braun, L. et Cohen, M. (2015).** *Hers & Natural Supplements, An evidence-based guide*. Volume 1, 4TH Edition. Elsevier Australia. Chap. 2, P.19-20.
- **Bruneton J., 1993.** *Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales*. 2ème édition, Tec & Doc. Lavoisier. Paris, 915p.
- **Bruneton, J. (2009).** *Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales*, 4e éd., revue et augmentée, Paris, Technologie & Document. Éditions médicales internationales. P. 978-2-7430-1188-8.
- **Calvet R., Barriuso E., Benoit P., Bedos C., Charnay M.P. et Coquet Y., (2005).** *Les pesticides dans le sol. Conséquences agronomiques et environnementales*. Editions France Agricoles, Paris, 637 p.
- **Carmine IA, Cristiane L, Marina P, Cristina WO.2009.** Antidepressant-like effect of diphenyl diselenide on rats exposed to malathion: Involvement of Na⁺/K⁺ ATPase activity. *Neurosciences Letters*, 455 : 168–172.

- **Castledina, R.M. & Harborne, J.B., (1976).** Phytochemistry. Journal of the American Pharmacists Association. Vol. 20 P. 339–345.
- **Caveny S., Charlet D.A., Freitqg H., Maier-Stolete M. et Starratt A. N., (2001).** New observations on the secondary chemistry of world Ephedra (Ephedraceae). American Journal of Botany. Vol.88, N°7. PP. 1199–1208.
- **CEC (2002).** Making the environment Healthier for Our Kids-An overview of environmental challenges to the health of North America's children.
- **Chen W.L, Tsai T.H., Yang C.C.H., Kuo T.B.J., (2010).** Effects of ephedra on autonomic nervous modulation in healthy young adults. Journal of ethnopharmacology, Vol. 130, pp. 563–568.
- **Chimie, M. E. N. (2017).** *Caractéristiques physico-chimiques de quelques extraits d'une plante : Ferula communis L Remerciements.*
- **Cho, Y.G., Cho, M.L., Min, S.Y. & Kim, H.Y. (2007).** Type II collagen autoimmunity in a mouse model of human rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev*:7; 65-70.
- **Chtourou, Y., Aouey, B., Aroui, S., Kebieche, M., & Fetoui, H. (2016).** Chtourou, Y., Aouey, B., Aroui, S., Kebieche, M., Fetoui, H., 2016. Anti-apoptotic and anti-inflammatory effects of naringin on cisplatin-induced renal injury in the rat. *Chem. Biol. Interact.* 243, 1–9.
- **Cillard, J., & Cillard, P. (2006).** Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 13(1), 24–29.
- **Cohen, M., 2002.** Stress oxydant, glycation protéique, vieillissement et maladies liées à l'âge. *La phytothérapie Européenne*. 6, 18-26.
- **Coleman, J.W., 2001.** Nitric oxide in immunity and inflammation. *Int. Immunopharmacol.* 1, 1397-1406.
- **Commission of the European Communities, 2007.** Monitoring of pesticides residues in products of plant origin in the European Union, Norway, Iceland and Liechtenstein 2005.
- **CPP, 2002.** Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. Comité de la Prévention et de la Protection. 47 p.
- **Damien, L (2010).** Projet d'estimation des risques sanitaires , estimation des expositions de la population générale aux insecticides : les organochlorés , les

organophosphorés et les pyréthrinoides, école des hautes études en santé publique (EHESP), PP : 21-24.

- **Davies, K. J. A. (2000).** Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement.
- **Derbel S., Touzard B., Triki MA et Chaieb M, 2010** - Seed germination responses of the Saharan plant species *Ephedra alata ssp. alenda* to fungicide seed treatments in the laboratory and the field. *Flora*, **205**:471–474p.
- **Dobignard A., Chatelain C, 2010** - Index synonymique, Flore d'Afrique du Nord. vol. **1**, Genève, 455 p.
- **Dogan E, Inglesi-Lotz R. 2020.** The impact of economic structure to the environmental Kuznets curve (EKC) hypothesis: evidence from European countries. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2020;27:12717–12724.
- **Domschke K et Zwanzger P. 2008.** GABAergic and endocannabinoid dysfunction in anxiety - future therapeutic targets? *Current Pharmaceutical Design.* 14: 3508-3517.
- **DUTERTRE J.M., 2011** - Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse doctorat d'état, Univ. Bordeaux 2-Victor Segalen U.F.R des sciences médicales, France, 33 p.
- **Eddleston M, Juszczak E, Buckley NA, Senarathna L, Mohamed F, Dissanayake W, et al.** Multiple dose activated charcoal in acute self-poisoning: a randomized controlled trial. *Lancet* 2008;371:579—87.
- **EI-Mallakh RS, R Li, 1993.** Is the Na⁺/K⁺ ATPase the link between phosphoinositide metabolism and bipolar disorder? *Journal of Neuropsychiatry.* 5: 361–368.
- **EI-Mallakh RS, Wyatt RJ, 1995;** The Na⁺/K⁺ ATPase hypothesis for bipolar illness, *Biology Psychiatry* 37:235–244.
- **Elizalde N, Gil-Bea FJ, Ramirez MJ, Aisa B, Lasheras B, et al. 2008.** Long-lasting behavioral effects and recognition memory deficit induced by chronic mild stress in mice : effect of antidepressant treatment. *Psychopharmacology*;199(1):1-14.
- **Elliott BM, Faraday MM, Phillips JM, Grunberg NE (2004).** Effects of nicotine on elevated plus maze and locomotor activity in male and female adolescent and adult rats, *Pharmacology Biochemistry Behavior* **77**: 21-28.
- **Elliott R et Barnes, J.M. (1961)** WHO/ insecticides/ 125.

- **Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., et Featherstone, R. M. (1961).** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88–95.
- **Eren I, Naziroglu M, et Demirdas A (2007).** Protective effects of lamotrigine, aripiprazole and escitalopram on depression-induced oxidative stress in rat brain. *Neurochemistry Research*. 32: 1188–1195.
- **Erkekoglu, P., Giray, B. K., Kizilgün, M., Rachidi, W., Hininger-Favier, I., Roussel, A. M., Favier, A., et Hincal, F. (2012).** Di (2-ethylhexyl)phthalate-induced renal oxidative stress in rats and protective effect of selenium. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 22(6), 415–423.
- **Fagot, M et Larrat J-P. 2002.** Application des produits phytosanitaires. P 501-563. In pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement, ACTA, Ed , Ministre de l'écologie et du développement durable, Paris.
- **FAO (2004):** FAO Specifications and evaluations for Fenthion (en anglais).
- **Favier, A (2003).** Le stress oxydant intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 106-115.
- **Fetoui H, Makn Mi, Garou EMi, et 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 .*Exp Toxicol Pathol*;62(6):593-9.
- **File SE, Gonzalez LE, Andrews N.1998.** Endogenous acetylcholine in the dorsal hippocampus reduces anxiety through actions on nicotinic and muscarinic1 receptors. *Behavioral Neurosciences* 112: 352.
- **Fleisher JH, Harris LW.** Dalkylation as a mechanism for aging of cholinesterase after poisoning with pinacolyl methylphosphonofluoridate. *Biochem pharmacol* 1965 ; 14 : 641-50.
- **Fortin, M. C., Bouchard, M. et Carrier, G. (2009).** [Comparison of the urinary excretion of biomarkers of exposure to pyrethroids and pyrethrins between residents of urban and rural areas of the province of Quebec, Canada]. *Rev Epidemiol Sante Publique*, 57(6), 395-401.
- **Freeman, B.A., James, D., Crapo, M.D., (1982).** Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab. invest.* p. 412.

- **Fritze J, (1993).**The adrenergic–cholinergic imbalance hypothesis of depression: a review and a perspective, *Reviews in Neurosciences* 41 :63–93.
- **Gamaro GD, Streck EL,Matte C, Prediger ME,Wyse ATS,Dalmaz C. (2003).** Reduction of hippocampal Na+K+ ATPase activity in rats subjected to an experimental model of depression, *Neurochemistry Research*. 28:1339–1344.
- **Ganther, H.E., (1999).** Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxin reductase. *Carcinogenesis*. 20,1657-1666.
- **Garait, B. (2006).** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®. Thèse de doctorat, UJF.198p.
- **Garcia-Alloza M, Gil-Bea FJ, Diez-Ariza M,Chen M, Francis PT, Lasheras MJ. et Ramirez M. (2005).** Cholinergic–serotonergic imbalance contributes to cognitive and behavioral symptoms in Alzheimer’s disease, *Neuropsychologia* 43:442–449.
- **Garcia F. Cortes S. Oyarzun J. Ceruelo A. Vazquez P., (2012).** Pesticides : Classification, Uses and Toxicity. Measures of Exposure and Genotoxic Risks, Article, *Journal of Research in Environmental Science and Toxicology*.
- **Ghanem, C., Ghanem, C., 2005.** Tabagisme et radicaux libres de l’Oxygène. Mémoire de fin d’études. Université Libanaise. p. 2.
- **Ghanem S. et El-Magly U.I.A., (2008).** Antimicrobial Activity and Tentative Identification of Active Compounds from the Medicinal Ephedra alata Male Plant. *J T U Med Sc.*, Vol. 3, N°1,pp. 7-15.
- **Gherraf N., Chebouat E., Dadamousa B., Garabli S., Allaoui M., Cheriti A., et Zellagui A, (2014).** Assessment of antimicrobial activity of flavonoids extracts from *Ephedra alata*. *Der pharmacia lettre*. 6(3) ,27-30p.
- **Ghosh, D., et Scheepens, A. (2009).** Vascular action of polyphenols. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53(3), 322–331.
- **Ghourri M., Zidane L., Douira A., (2013).**Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain (Tan-Tan). *Journal of Animal & Plant Sciences*, Vol.17, pp. 2388-2411.
- **Grune, T., Reinheckel, T., & Davies, K. J. A. (1997).** Degradation of oxidized proteins in mammalian cells. *The FASEB Journal*, 11(7), 526–534.

- **Guedri K (2014).** Etude des perturbations neuro-biologiques et comportementales chez un modèle animal, gonadectomisé. These doctorat. Annaba. p87.
- **Gueye P. M (2007).** Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-érythrocytaire sur le globule rouge. thèse pour le doctorat Sciences Pharmaceutiques, Université Louis Pasteur, Strasbourg
- **Guoyi, M., Supriya, A. B., Yolande, M. D., Shilpa, G. L., Rangaswamy, N. et Dennis, R. F. (2007).** Pharmacological Effects of Ephedrine Alkaloids on Human 1- and 2- Adrenergic Receptor Subtypes. *Journal of Pharmacology*. 322: pp. 214-221.
- **Gupta RC. 2001.** Depletion of energy metabolites following acetylcholinesterase inhibitor-induced status epilepticus: protection by antioxidants. *Neurotoxicology* 22, 271.
- **Gurib-Fakim, A. (2006).** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, 27(1), 1–9..
- **Gutteridge, J.M., Halliwell, B., 1992.** Comments on review of Free Radicals in Biology and Medicine. *Free Radical Biol. Med.* 12, 93-95.
- **Gutteridge, J.M., 1993.** Free radicals in disease processes: a complication of cause and consequence. *Free Radical Res. Commun.* 19, 141-158.
- **Hadi, M., 2004.** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro- oxydant capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur. p. 155.
- **Hale, A.L., (2003).** Screening potato genotype for antioxidant activity, identification of the responsible compounds, and differentiating russet norkotah strains using AFLP and microsatellite marker analysis. Thèse de doctorat. Université de Texas A&M. p. 260.
- **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue Medicale de Liege*, 62(10), 628–638.
- **Hall, B. (1998).** FOOD AND AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL SECOND ANNUAL MEETING OF AGRICULTURAL SCIENTISTS Second Annual Meeting of Agricultural Scientists. AUGUST 1997, 12–13.
- **Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1989.** Free radical in biology and medicine. Clarendon Press. Université d'Oxford.

- **Hamel, T., Seridi, R., Belair, G. de, Slimani, A., & Babali, B. (2013).** Flore vasculaire rare et endémique de la péninsule de l'Edough (Nord-Est algérien). *Synthèse: Revue Des Sciences et de La Technologie*, 26, 65–74.
- **Hamel, T., Sadou, S., & Seridi, R. (2018).** Pratique traditionnelle d' utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l' edough (nord-est algéri en). *Ethnopharmacologia*, 59, 75–81.
- **Handy RD, Abd-El Samei HA, Bayomyv MFF, Mahran AM, Abdeen AM, El-Elaimy EA. (2002).** Chronic diazinon exposure: pathologies of spleen, thymus, blood cells, and lymph nodes are modulated by dietary protein or lipid in the mouse. *Toxicology* 172: 13–34.
- **Hartmann, T. (2007).** From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68(22–24), 2831–2846.
- **Hassall M, Rushton SP (1982).** The role of coprophagy in the feeding strategies of terrestrial isopods. *Oecologia (Berl)* 53:374-381.
- **Hayes W. (1982)** Organic phosphorus pesticides. In: *Pesticides studied in man*. Baltimore: Williams & Wilkins : 284-435.
- **Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004).** Polyphenols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3–6
- **Hennebelle, T., (2006).** Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants : *Marrubium peregrinum*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbenacées). Thèse de doctorat. Université Lille- Lille 1. p. 304.
- **Hennen, G., 1996.** Biochimie humaine: Introduction biochimique à la médecine interne. Université de De Boeck. p. 360.
- **Herbette, S., Roeckel-Drevet, P., Drevet, J.R., (2007).** Selenium independent glutathione peroxidases. More than simple antioxidant scavengers. *FEBS J.* 274, 2163-2180.
- **Herken H, Gurel A, Selek S, Armutcu F, Ozen ME, Bulut M, Kap O, Yumru M, Savas HA, Akyol O. (2007).** Adenosine deaminase, nitric oxide, superoxide dismutase, and xanthine oxidase in patients with major depression: impact of antidepressant treatment. *Archive Medical Research* 38: 247–252.

- **Hidayat, R., et Fatmawati. (2016).** Anti-cancer activity of *Aquilaria malacensis* leaves on human cervical cancer cells. *European Journal Of Pharmaceutical And Medical Research*, 3(1), 46-49.
- **Hill, K.E., White, J.G., Rao, G.H.R., (1989).** Role of glutathione and glutathione peroxydase in human platelet arachidonic acid metabolism. *Prostaglandins*. 3, 21-32.
- **Huanga L , Zhaoa B , Lia Q, Wu J, Jiangb H , and Li Q (2021).** Ephedrine alleviates middle cerebral artery occlusion-induced neurological deficits and hippocampal neuronal damage in rats by activating PI3K/AKT signaling pathway . *Bioengineered*. 12(1). 4136–4149.
- **Iserin, P. (2001).** *Encyclopédie des plantes médicinales*, 2 eme édition Larousse, France. P.97.
- **Jurewicz, J., Hanke, W., Johansson, C., Lundqvist, C., Ceccatelli, S., van den Hazel, P., Saunders, M., et Zetterstrom, R., 2006.** Adverse health effects of children's exposure to pesticides: what do we really know and what can be done about it. *Acta Paediatr Suppl*. 95(453); 71-80.
- **Kaloyanova, F.P., et El Batawi, M.A., (1991).** *Human Toxicology of Pesticides*. CRC Press.
- **Kandil MA, El-Kashoury AA, El-Said MM, et El-Herrawy MA (2006).**, Interactive effects of imidacloprid, profenofos and carbosulfan at low concentrations on homeostasis and haematological indices in male albino rats. *Journal Egyptian Society Toxicology* 35: 69-78.
- **Keerthi, M., Prasanna, J., Aruna, M. et Rao, N. (2014).** Review on polyphenols as nature's gift world. *Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, 3 (4): 445-455.
- **Kirby LG et Lucki I. (1997).** Interaction between the forced swimming test and fluoxetine treatment on extracellular 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid in the rat, *Journal Pharmacology Experimental Therapeutic* 282(2): 967-976.
- **Krief, S., et M, S. K. (2004).** *M ´ etabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l ´ alimentation des chimpanz ´ es (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda . Activit ´ es biologiques et ees To cite this version : May 2004.*
- **Krieger RI. (2001).** *Handbook of Pesticide Toxicology*, Academic Press, New York (NY), pp 275-283.

- **Ksouri, R., Megdiche, W., Falleh, H., Trabelsi, N., Boulaaba, M., et Smaoui, A., & Abdelly, C. (2008).** Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *Comptes Rendus - Biologies*, 331(11), 865–873.
- **Lasrama MM , Ines Bini Dhouiba,c, Kahna Bouzidb,Aicha Jrad Laminea, Alya Annabia, Nadia Belhadjmidac,Malika Ben Ahmedc, Saloua El Fazaaa, Jaouida Abdelmoulab,Najoua Gharbi (2014).** Association of inflammatory response doxidative injury in the pathogenesis of liversteatosis and insulin resistance followingsubchronic exposure to malathion in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 38 : 542–553
- **Leung, A. et Foster, S. (1996).** Encyclopedia of Common Natural Ingredients. John Wiley & Sons: New York. 3 : 64-67.
- **Ligor, M., Olszowy, P. et Buszewski, B., (2011).** Application of medical and analytical methods in Lyme borreliosis monitoring. *Publication Medicinal Central*. Mar; 402(7): 2233–2248.
- **Limberger, R.P., Jacques, A.L.B. Schmitt, G.C. et Arbo, M.D (2013).** Pharmacological Effects of Ephedrine. *Natural Products*, PP. 1218- 1237.
- **Litovitz TL, Martin TG, Schmitz B. (1986).** Annual report of the American Association of Poison Control Centers National Data Collection System. *Am J Emerg Med*. 1987; 5: 405-445.
- **Liu, S., Plachez, C., Shao, Z., Puche, A & Shipley, MT (2013).** Olfactory bulb short axon cellrelease of GABA and dopamine produces a temporally biphasic inhibition-excitationresponse in external tufted cells. *J. Neurosci*. 33, 2916-2926.
- **Lotti M, Moretto A. (1986)** Inhibition of lymphocytic neuropathy target esterase predicts the development of organophosphate polyneuropathy in man. *Hum Toxicol*; 5 : 114.
- **Lu, C., Toepel, K., Irish, R., Fenske, R. A., Barr, D. B., et Bravo, R., (2006).** Organic diets significantly lower children's dietary exposure to organophosphorus pesticides. *Environ Health Perspect*. 114(2); 260-263.
- **Ma G., Bavadekar S.A., Davis Y.M., Lalchandani S.G. Nagmani R., Schaneberg B.T., Khan I.A., et Feller D.R., (2007).** Pharmacological Effects of Ephedrine Alkaloids on Human α 1- and α 2 Adrenergic Receptor Subtypes. *The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics*, 322 :214- 221.

- **Madhavan P. Supriya M . Jessica L. Reynolds .Ravikumar A, Harikrishnan N, Stanley A. Schwartz. et Chithan K.(2006).** The Flavonoid Quercetin Inhibits Proinflammatory Cytokine (Tumor Necrosis Factor Alpha) Gene Expression in Normal Peripheral Blood Mononuclear Cells via Modulation of the NF- System
Department of Medicine and Microbiology, *Buffalo General Hospital*, p319–32.
- **Manthey, J.M. (2000).** Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. *Microcirc*; 7: p 28-34.
- **Martin, S., et Andriantsitohaina, R. (2002).** Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, 51(6), 304–315..
- **Matolcsy A., Casali P., Warnke R.A. and Knowless M.D. (1996).** Morphology transformation of follicular lymphoma ios associated with somatic mutation of the translocated BCL-2 gene. *Blood*, 88 : 3937-3944.
- **Mayer DF, Lurden CA, Williams RE, (1991).** Tralomethrin insecticide and domestical pollinator. *American Bee Journal*. 132: 461.
- **McKelvey, T.G., Hollwarth, M.E., Granger, D.N., Engerson, T.D., Landler, U., Jones, H.P., (1988).** Mechanisms of conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase in ischemic rat liver and kidney. *Am. J. Physiol.* 254, 753-760.
- **Meyer SE, 2008 - Ephedra L.:ephedra or Mormon-tea.** In:Bonner, Franklin T.; Karrfalt, Robert P., eds. *The Woody Plant SeedManual*. Agric. Handbook No. 727. Washington, DC. U.S. Department of Agriculture, Forest Service,492-494 p.
- **Middleton, E.J.R., Kandaswami, C., Theoharidesi, T.C., (2000).** The Effects of plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease and Cancer. *Pharmacol. Rev.* 52, 673–751.
- **Mohler H., 2006.** GABAA receptors in central nervous system disease: anxiety, epilepsy, and insomnia. *Journal of Receptors and Signal Transducers Research* 26: 731-740.
- **Montoro, P., Braca, A., Pizza, C., et Tommasi, N., (2005).** Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. *Food. Chem.* 92, 349–355.
- **Nawwar, M., El-Sissi, H.I. et Barakat, H.H. (1984).** Flavonoid constituents of *Ephedra alata*. *Phytochemistry*, Vol. 23, N°. 12, pp. 2937-2939.

- **Nikitaki, Z., Hellweg, C. E., Georgakilas, A. G., & Ravanat, J. L. (2015).** Stress-induced DNA damage biomarkers: Applications and limitations. *Frontiers in Chemistry*, 3(JUN), 1–15.
- **Nile, S. H., et Park, S. W. (2014).** Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*, 30(2), 134–144.
- **Niviere, V., et Fontecave, M., 1994.** Biological sources of reduced oxygen species in Training in Free radical methodologies: production, damage, repair. Université de Grenoble. pp: 1-16.
- **Omya GA.2012.** Immune Modulating Effects of Malathion with the Role of Bradykinin Potentiating Factor in Juvenile Male Rats. *Ibnosina Journal of Medicine and Biomedical Sciences* 5: 151-169.
- **Ouagazzal AM, Kenny PJ, File SE.(1999).** Modulation of behaviour on trials 1 and 2 in the elevated plus-maze test of anxiety after systemic and hippocampal administration of nicotine. *Psychopharmacology* 144: 54.
- **Ould El Hadj M.D., Hadj-Mahammed M. et Zabeirou H., (2003)-** place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (sahara septentrional est). *Courrier du savoir*. n°3, pp. 47-51.
- **Ozenda P., (1991).** Flore et végétation du Sahara. Centre National De La Recherche Scientifique, Paris (3ème Ed.). 662 p.
- **Parsaeimehr A. , Sargsyan E., Javidnia K, (2010).** Influence of plant growth regulators on callus induction, growth, chlorophyll, ephedrine and pseudoephedrine contents in *Ephedra procera* . *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(13):1308-1317p.
- **Paykel ES (2006).** Depression: major problem for public health, *Epidemiologia Psichiatria Sociale* 15: 4–10.
- **Pelli, K., Lyly, M., 2003.** Les antioxydants dans l'alimentation. INRA. France. pp: 4-17.
- **Petit-Demouliere B, Chenu F, Bourin M. (2005).** Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity, *Psychopharmacology (Berl)*.Vol. 177(3): 245-255.
- **Phinney, K.W., Ihara, T. et Sander, L.C. (2005).** Determination of ephedrine alkaloid stereoisomers in dietary supplements by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, Vol. 1077, pp. 90–97.

- **Piotrowski, W.J. et Marczak, J. (2000).** Cellular sources of oxidants in the lung. *Int.J.Occup. Med. Environ. Health.*13, 369-385.
- **Porsolt, R. D., Anton, G., Blavet, N. et Jalfre, M. (1978).** Behavioural despair in rats: A new model sensitive to antidepressant treatments. *European Journal of Pharmacology*, 47(4), 379–391
- **Porsolt RD., Bertin A, Blavet N, Deniel M., et Jalfre. M. (1979).** Immobility induced by forced swimming in rats: Effects of agents which modify central catecholamine and serotonin activity. *European Journal of Pharmacology*. 57: 201-210.
- **Porsolt D., Pichon M., Jalfre M. (1977).** Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*. 266 :730–732.
- **Prathiba J, Kumar KB, et Karanth KS. (2000).** Effects of REM sleep deprivation on cholinergic receptor sensitivity and passive avoidance behavior in clomipramine model of depression. *Brain Research* 867: 243-245.
- **Ravanat, J. L. (2005).** Measuring oxidized DNA lesions as biomarkers of oxidative stress: An analytical challenge. *Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences*, 30(2), 100–113.
- **Richmond, W.(1973)** Preparation and Properties of a Cholesterol Oxidase from *Nocardia* sp. and Its Application to the Enzy-matic Assay of Total Cholesterol in Serum. *Clinical Chemistry*, 19: 1350-1356.
- **Roberfroid, M., (2002).** Aliments fonctionnels. Eds. TEC and DOC. Paris. pp: 282-310.
- **Robinson, S. H., (1990).** Degradation of hemoglobin. 4th Edition. In Williams Hematology edition, New York. PP. 407 – 414.
- **Rodrigues, L.S., Targa, A.D., Nosedá, A.C., Aurich, M.F., Da Cunha, C et Lima, M.M., (2014).** Olfactory impairment in the rotenone model of Parkinson’s disease is associated withbulbar dopaminergic D2 activity after REM sleep deprivation. *Front. Cell. Neurosci.*8, 383.
- **Rousseau A. Grenier I. et Quilbe R (2007).** Classification des Pesticides à l’aide de Cartes Auto-organisatrices de Kohonen en vue du Développement de Normes de Performance Agro-environnementale Atteignables (NPA) à l’Echelle des Bassins Versants, Rapport N° R-932, Centre Eau, Terre et Environnement, Institut National de la Recherche Scientifique (INRS-ETE), Québec, Canada, p.4.

- **Rujjanawate, C., Kanjanapothi, D, et Panthong, A. (2003).** Pharmacological effect and toxicity of alkaloids from *Gelsemium elegans* Benth. *Journal of Ethnopharmacology*, 89 (1): 91-95. doi:10.1016/S0378-8741(03)00267-8.
- **Saad, A. F., Virella, G., Chassereau, C., Boackle, R. J., & Lopes-Virella, M. F. (2006).** OxLDL immune complexes activate complement and induce cytokine production by MonoMac 6 cells and human macrophages. *Journal of Lipid Research*, 47(9), 1975–1983.
- **Sáenz JCB, Villagra OR, et Trías JF.(2006).** Factor analysis of forced swimming test, sucrose preference test and open field test on enriched, social and isolated reared rats. *Behavior Brain research* 169: 57-65.
- **Saïssy JM et Rüttimann M, (1999).** Intoxications par les organophosphorés, *Médecine d'urgence* 1999, Elsevier, Paris et SFAR, p. 103-120.
- **Sanogo, R. (2006)** Le Rôle des Plantes Médicinales en Médecine Traditionnelle. *Développement, Environnement et Santé*, 53 p.
- **Sasajima, H., Miyazono, S., Noguchi, T., et Kashiwayanagi, M. (2015).** Intranasal administration of rotenone in mice attenuated olfactory functions through the lesion of dopaminergic neurons in the olfactory bulb. *Neurotoxicology* 51, 106–115.
- **Saunders, M., Fox, D., Salisbury, C., Strokes, V., Palmer, A., and Preece, A., 2004.** Placental transfer and foetal uptake of pesticides. *Toxicology and applied pharmacology*. 197(341).
- **Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2005).** Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(4), 287–306.
- **Scheider, G (1960).** Hofchen-Briefe, Bayer pflanzenschutz-Nachrichten, 13(1).
- **Servili, M. et Montedoro, G. (2002).** Contribution of phenolic compounds in virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*. PP. 104, 602–613.
- **Séverine, B., (2002).** Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestifs des ruminants. En vue de l'obtention du Doctorat, spécialité : Pathologie et Nutrition. Université De Toulouse. 246p.
- **Sioud1 F, Mangelinckx S, Lahmer A, Bonneure E, Chaabene F et Ghedira L (2021).** Alkaloids Isolated from *Ephedra Alata*: Characterization and Protective

Effects Against Cisplatin-Induced Liver and Kidney Injuries in Mice . Biomed J Sci & Tech Res. 36(3) : 28591- 28602.

- **Soni, M.G, Carabin, I.G., Griffiths, J.C. et Burdock, G.A. (2004).** Safety of ephedra: lessons learned. *Toxicology Letters*, Vol. 150, pp. 97–110.
- **Štajn, A., Žikić, R. V., Ognjanović, B., Saičić, Z. S., Pavlović, S. Z., Kostić, M. M., et Petrović, V. M. (1997).** Effect of cadmium and selenium on the antioxidant defense system in rat kidneys. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Pharmacology Toxicology and Endocrinology*, 117(2), 167–172.
- **Stéphane, S., (2004).** Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l’ozone: effets de l’âge et d’une supplémentation en oméga-3. Thèse de doctorat. Université de Claude Bernard-Lyon 1. p. 163.
- **Tabuti, J. R. S., Lye, K. A., & Dhillon, S. (2003).** Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: Plants, use and administration. *Journal of Ethnopharmacology*, 88(1), 19–44.
- **Taiz, A.K., Eduardo, E.P., Efoto, L.E., Ngbolua, J.P.K., Tangou, T.T., Kalulu, N., Makaly, E., (2006).** Dépollution biologique des lixiviats de la décharge des déchets de Mpassa à Kinshasa , R D Congo avec le jus d ’Averrhoa carambola .*International Journal of Current Innovations in Advanced Research*, 1(6), 107–117.
- **Tang S. Y. et Halliwell B. 2010.** Medicinal plants and antioxydants: What do we learn from Cell culture and Caenorhabditis elegans studies? *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 394:1-5.
- **Tayaa H. (2014).** Impact de l’exposition gestationnelle au diazinon sur les rattes wistar et sur le neurodéveloppement de leur progéniture. Thèse de doctorat. Annaba.,pp 107.
- **Tayade, S. (2013).** Pesticide Contamination in Food: A Review. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 6(1), 07–11.
- **Testud, F et Grillet JP (2007).** Insecticides organophosphorés, carbamates, pyréthriinoïdes de synthèse et divers. EMC. Toxicologie-Pathologie Professionnelle. 16- 059-C-1.
- **Testud, F et Bougon, D. (2009).** Intoxication sévère par un insecticide organophosphoré après accident de pulvérisation aérienne. *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*, 70(4), 465-470.

- **Thannickal, V.J., Fanburg, B.L., (2000).** Reactive oxygen species in cell signaling. *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 279, 1005-1028.
- **Théron, P., Denis, B., 2005.** Cibles lipidiques des radicaux libres dérivés de l'oxygène et de l'azote : effets biologiques des produits d'oxydation du cholestérol et des phospholipides. Lavoisier Ed. TEC & DOC. Paris. pp: 114-167.
- **Trinder, P. (1969)** Enzymatic determination of glucose in blood serum. *Annals of Clinical Biochemistry*, 6, 24.
- **Tron, I., Piquet, O. et Cohuet, S., (2001).** Effets chroniques des pesticides sur la santé : état actuel des connaissances. Eds : ORS Bretagne, p. 9.
- **UE (2002):** Review report for the active substance Fenthion. Document SANCO/485/00–rev. 12 (cette version inclut la liste des points extrêmes) (en anglais).
- **Ueli, A., Cecillia, M. et Donald, A., (1991).**Flavonoids Released Naturally from Alfalfa Seeds Enhance Growth Rate of *Rhizobium meliloti*. *Plant Physiology*. vol. 95, N° 3, PP. 797-803.
- **Valko M., Rhodes C.J.Moncol J. Izakovic M. et Mazur M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. **160**:1-40.
- **Verbois, S. (2015).** La phytothérapie: Une synthèse de référence illustrée pour découvrir les vertus et profiter des bienfaits des plantes. Éditions Eyrolles France, Paris. Chap. 1, PP. 19-20.
- **Vinson, J. A., Dabbagh, Y. A., Serry, M. M., & Jang, J. (1995).** Plant Flavonoids, Especially Tea Flavonols, Are Powerful Antioxidants Using an in Vitro Oxidation Model for Heart Disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(11), 2800–2802.
- **Virginia C M. (1995).** Comparisons of the Acute Effects of Cholinesterase Inhibitors Using a Neurobehavioral Screening Battery in Rats. *Neurotoxicology and Teratology* 17(6) : 617-625.
- **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: 60-66.
- **Ward TR, Mundy WR. (1996).** Organophosphorus compounds preferentially affect second messenger systems coupled to M2/M4 receptors in rat frontal cortex. *Brain Research Bulletin*. 39, 49.

- **Wellman PJ, Miller DK, Livermore CL, et al. (1998).** Effects of (-)-ephedrine on locomotion, feeding, and nucleus accumbens dopamine in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 1998;135:133–140.
- **Willner P.(1990).** Animal models of depression: an overview. *Pharmacology Therapy* 45, 425-455.
- **Worek F, Koller M, Thiermann H, Szincz L. (2005)** Diagnostic aspects of organophosphate poisoning. *Toxicology* 214:182—9.
- **Wu Z, Kong X, Zhang T, et al.(2014)** Pseudoephedrine/ephedrine shows potent anti-inflammatory activity against TNF- α -mediated acute liver failure induced by lipopolysaccharide/D-galactosamine. *Eur J Pharmacol.*724:112–121.
- **Xiaoling Z, Wenmin H, Qianhang S, Yuan Y,f, Zhengxin X, Jing C ,Xiaoyan Z, & Xiaoqun G (2020).** Drp1, a potential therapeutic target for Parkinson’s disease, is involved inolfactory bulb pathological alteration in the Rotenone-induced rat model *Toxicology Letters.* 325, 1-13.
- **Yagi, K. (1976).** Simple fluorimetric essay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem. Med.* Vol. (15), 212-216.
- **Yekeen, TA., Fawole, OO., Bakare, AA., et Emikpe, BO. (2016).** Alteration in haematological, biochemical and reproductive indices of *Rattus norvegicus* treated with lambdacyhalothrin. *Zoology and Ecology*, 26(1), 47–56.
- **Youmbai et Chemsal I. (2019).** Contribution à l’étude de l’évaluation biologique de co-traitement par la chimiothérapie et par l’Ephedra Alata chez des femmes cancéreuses de la région d’El Oued. mémoire master. Université Eloued. pp48.
- **Younes, M., (1999).** Free Radicals and Reactive Oxygen Species. *Academic Prés.* : 111-125.
- **Yuki, K., Shu, Z., Takayuki, O., Ken, T., Javzan, B., Chinbat, S., Hirotoshi, F. & Katsuko, K. (2009).** Molecular Analysis and Chemical Evaluation of Ephedra Plants in Mongolia. *Biological and Pharmaceutical Bulletin Journals.* 32 (7):.1235- 1243.
- **Zhu Y, Ren C, Zhang M, et al. (2020).** Perilipin 5 reduces oxidative damage associated with lipotoxicity by activating the PI3K/ERK-mediated Nrf2-ARE signaling pathway in INS-1 pancreatic β -cells. *Front Endocrinol (Lausanne).* 11:166.

Références web-graphiques

- <https://fr.statista.com/infographie/11599/chiffre-affaires-pesticides-produits-phytosanitaires-dans-le-monde-et-par-region/>
- <http://www.lienhorticole.fr/produire/pesticides-horticoles-l-eau-l-air-et-les-sols-impactes,6,319215344.html>.
- <https://www.crphyto.be/agriculteurs/bonnes-pratiques/3-bonnes-pratiques-pendant-la-preparation-du-traitement>