

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد السديق بن يحيى - جيجل

Université Med -Seddik Benyahia- Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de la vie

Département des Sciences de l'Environnement
et des Sciences Agronomique



كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم علوم المحيط و العلوم الفلاحية

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique en Biologie**

Option : toxicologie de l'environnement

Thème

Etude de la neurotoxicité liée au stress oxydant induit par les pyréthrinoides chez le rat wistar.

Jury de soutenance :

Président : M^{me} Lemzeri H.

Examineur : M^{me} Ouanas I.

Encadrant : M^{me} Mekircha F.

Session 2017

Présenté par :

Boudefar Sabrina

Sayoud Amina

Numéro d'ordre :

Laboratoire ou entreprise ou le travail a été réalisé : laboratoire de pharmacologie



Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu tout puissant qui nous a donné la santé, le courage et la patience pour mener à bien ce modeste travail.

Nous exprimons toutes nos profondes reconnaissances à notre encadreur M^{me} Mekircha Fatiha pour le temps consacré à nous écouter, nous orienter et nous corriger tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nos vifs remerciements également aux membres du jury M^{me} Ouanas I, M^{me} Lemzeri H Pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous souhaitons exprimer nos profondes gratitudees à tous les enseignants qui nous ont contribués à notre formation

*En fin nous remercions tous ceux qui ont contribué de loin
Ou de près à la réalisation de ce modeste travail.*

Sabrina et Amina



DÉDICACES



Je dédie ce modeste travail avant tout à mes

Très chers parents Fatiha et Mahmoud qui ont tout sacrifié pour mon bien et qui ont éclairé ma route par leur compréhension, Leur soutien, leur encouragement et sa confiance qui m'a donné la volonté de passer toujours en avant, ils sont les plus chers père et mère.

A

Mes deux chères frères : Aziz et Mouhammed

Mes chères sœurs : Selma, Linda

Nadia et son mari Nouredine

Et le petit ; Jad

A

Ma chère amie : Meriem

A

Tous les enseignants qui m'ont dirigé vers la porte de la réussite

Une spéciale dédicace à mon binôme Amina

A Tous mes collègues Et tous les étudiants Du Master 2 Toxicologie de l'environnement

A

Toute la Promotion 2017

A

Tous ceux qui m'aiment et que j'aime



Sabrina Boudefar

DÉDICACES

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents " Mouhammed « Et" Houria» qui m'ont

Toujours encouragé et soutenu dans mes

Études jusqu'à atteindre ce stade

De formation.

*Mes frères : Ammar, Mouloud, Youssef, Abd el Hamid, Sofiane, fateh
et sa femme Assia*

Et le petit Nounous ; Anas Abd El Moumen

Ma chère sœur : Aïcha

*A Tous mes amies : Chahrazed, HANANE, WARDA, ASSIA, LINDA,
IMENE*

A Tous les enseignants qui m'ont dirigé vers la porte de la réussite

Une spéciale dédicace à ma sœur et mon binôme Sabrina

*A Tous mes collègues Et tous les étudiants Du Master 2 Toxicologie de
l'environnement*

A toute la Promotion 2017.

Amina Sayoud

Liste des tableaux.....	v
Liste des figures	vi
Liste des abréviations	vii
Introduction générale	1
Chapitre I: Généralités sur les pyréthrinoides	
I.1.Définition	2
I.2. Classification	3
I.2.1. pyréthrines Naturelle	3
I.2.2. Pyréthrines Synthétique	3
I.3. Les propriétés physicochimiques des pyréthrinoides	5
I.4. pyréthrinoides de type II : deltaméthrine et cyperméthrine.....	5
I.4.1. La deltaméthrine.....	5
I.4.1.1. Utilisation.	5
I.4.1.2. Propriétés physiques	5
I.4.1.3. Propriétés chimiques	6
I.4.2.lacyperméthrine	6
I.4.2.1. Utilisation	6
I.4.2.2. Propriétés physico-chimiques.....	6
I.5. Voie d'exposition au pyréthrinoides ..	7
I.5.1.Exposition par inhalation.	7
I.5.2.Exposition par voie orale.	7
I.5.3.Exposition par voie cutanée.	7
I.6.Toxicité sur le cerveau.....	7

Chapitre II : le stress oxydant

II.1. Définition.	9
II.2. Les radicaux libres.	9
II.3. Espèces réactives oxydantes (ROS) :	10
II.3.1. Définition des ROS.	10
II.3.2. Les Sources des ROS	10
II.3.2.1. Les sources endogènes	10
II.3.2.2. Les sources exogènes	11
II.4. Les cibles biologiques du stress oxydant :	11
II.4.1. Oxydation des protéines	11
I.4.2. Peroxydation lipidique	11
I.4.3. Oxydation de l'ADN	12
II.5. Les systèmes de défense antioxydants	12
II.5.1. Les systèmes enzymatiques	12
II.5.1.1. Les superoxyde dismutases (SOD)	12
II.5.1.2. La glutathion peroxydase (GPx)	13
II.5.1.3. La catalase (CAT)	13
II.5.1.4. La glutathion S transférase (GST)	13
II.5.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques :	14
II.5.2.1. Glutathion GSH	14
II.6. Le stress oxydant et les pyrèthrinoides	14

Chapitre III : Matériel et méthodes

III.1. Enquête	15
III.2. Evaluation de l'activité prooxydante des deux insecticides (CYP et DEL) sur le cerveau... 15	
III.2.1. Les animaux.....	15
III.2.2. Traitement des animaux	15
III.2.3. Sacrifice des animaux et prélèvement du cerveau	16

III.2.4. Préparation de la fraction cytosolique	18
III.2.4.1. Préparation de la fraction cytosolique pour le dosage de l'MDA et du GSH	18
III.2.4.2. Préparation de la fraction cytosolique pour l'évaluation de l'activité enzymatique de la CAT et de la GST	18
III.2.5. Dosage des protéines	18
III.2.5.1. Principe	18
III.2.5.2. Méthode de dosage	19
III.2.6. Méthodes de dosage des paramètres du stress oxydant.....	19
III.2.6.1. Dosage dumalon dialdéhyde.....	19
III.2.6.1.1. Principe	19
III.2.6.1.2. Méthode de dosage	19
III.2.6.2. Dosage du glutathion réduit (GSH)	19
III.2.6.2.1. Principe	19
III.2.6.2.2. Méthode de dosage	20
III.2.6.3. Evaluation de l'activité catalasique.....	20
III.2.6.3.1. Principe	20
III.2.6.3.2. Méthode de dosage	20
III.2.6.4. Evaluation de l'activité enzymatique de la Glutathion S-Transférase.....	20
III.2.6.4.1. Principe	20
III.2.6.4.2. Méthode de dosage	21
III.3. Traitement statistique	21
Chapitre IV : Résultats et discussion	
IV.1. Résultat de l'enquête	22
IV.2. Evaluation des paramètres du stress oxydant	23

IV.2.1. Evaluation de la peroxydation lipidique cytosolique.....	23
IV.2.2. Evaluation du taux de glutathion (GSH)	24
IV.2.3. Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase	25
IV.2.4. Evaluation de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST)	26
IV.3.Discussion.....	28
Conclusion et perspectives.....	32
Annexe	
Références bibliographiques	

Tableau 01 : les structures chimiques des pyréthrinoides de type I et type II.....	4
Tableau 02 : propriétés physiques de la deltaméthrine.....	5
Tableau 03 : Propriétés physico-chimiques de la cyperméthrine.....	6
Tableau 04 : Vue d'ensemble des espèces réactives de l'oxygène.....	10

Figure 01 : espèce de chrysanthèmes.....	2
Figure 02 : Mode d'action des pyréthriinoïdes sur les neurones.....	8
Figure 03 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques.....	14
Figure 04 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	17
Figure 05 : Représentation des pesticides les plus utilisés dans la région Est du Jijel	23
Figure 06 : Représentation de la place des pyréthriinoïdes au sein des différentes familles des insecticides couramment utilisés dans la région de Jijel	24
Figure 07 : Variation du taux de MDA cytosolique (nmol/mg de protéines) chez les rats <i>Wistar</i> mâles et femelles traités par la deltaméthrine, la Cyperméthrine et la mixture.....	25
Figure 08 : Variation de taux de GSH cytosolique (mmol/mg de protéines) chez les rats <i>wistar</i> mâles et femelles traités par la deltaméthrine, la cyperméthrine et la mixture	26
Figure 09 : Variation de l'activité enzymatique de la CAT cytosolique (U/mg de protéines) chez les rats <i>Wistar</i> mâles et femelles traités par la deltaméthrine, la cyperméthrine et la mixture.....	27
Figure 10 : Variation de l'activité enzymatique de GST cytosolique (U/mg de protéines) chez les rats <i>wistar</i> mâles et femelles traités par la deltaméthrine, la cyperméthrine et la mixture.....	28

$^1\text{O}_2$	Oxygène singlet
$^3\text{O}_2$	L'oxygène triplet
ADN	Acide désoxyribonucléique
BBC	Bleu Brillant de Coomassie
BSA	Bovin Sérum Albumine
CAT	Catalase
CDNB	1-Chloro-2,4-dinitrobenzene
CN	Cyanure
CYP 450	Cytochrome P450
CYP	Cyperméthrine
DEL	Delthaméthrine
DL 50	Dose létale 50
DO	Densité optique
DTNB	5-5`-dithiobis2-nitrobenzoïque
EDTA	Ethylène diamine tétra acétique
GABA	Acide gamma aminobutyrique
GPx	Glutathion peroxydase
GSH	Glutathion
GSSH	Glutathion Oxydé
GST	Glutathion-S-Transférase
H_2O°	L'hydroperoxyde
H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée)
HNO_2	Acide hypochloreux
M	Molaire
MDA	Malondialdéhyde
NADPH, H^+	Nicotinamide adénine di nucléotide phosphate
NBT	NitroblueTetrazolium
NOEL	No observed effect level

O₂	l'oxygène
O₂⁰	Anion superoxide
O₃	L'ozone
OH⁰	le radical hydroxyle
PH	Potentiel hydrogène
PPb	partie par billion
RO^o	Le radical alcoxyle
ROO^o	Le radical peroxyde
ROS	Reactive oxygen species
SOD	Superoxyde dismutase
TBA	Acide thiobarbiturique
TCA	Acide trichloracétique
TNB	Thionitrobenzoïque
TSE	Tris/Succrose/EDTA

Les pesticides sont des produits chimiques utilisés largement dans l'agriculture, afin d'améliorer la production alimentaire et utilisés également dans la santé publique pour lutter contre les insectes vecteurs des maladies (**Parron et al., 2011**).

Les pyréthrinoides sont des dérivés synthétiques des pyréthrines. Ils ont été introduits sur le marché au milieu des années 1970, et remplacent les pesticides organophosphorées grâce à leur plus grande toxicité envers les insectes et leur faible toxicité chez les mammifères bien qu'ils puissent être sensibles à une exposition à long terme aux pyréthrinoides, ils en sont partiellement protégés en raison de leur lente absorption cutanée, de leur métabolisation rapide et de l'excrétion de leurs métabolites (**Bradberry et al., 2005**). Les pyréthrinoides constituent aujourd'hui la famille d'insecticides la plus utilisée, tant en usage agricole que domestique (**Fréry et al., 2013**).

Ils sont plus solubles dans les lipides que dans l'eau, leur volatilité demeure faible. Les pyréthrines naturelles sont rapidement dégradées par la lumière du soleil (photo dégradation) et en présence d'humidité (hydrolyse). Cependant les pyréthrinoides synthétiques sont plus stables, ils ayant un noyau structural similaire à celui des pyréthrines naturelles mais qu'en général se dégradent moins rapidement dans l'environnement et maintiennent donc leur efficacité pendant une période de temps accrue (**Casida, 1980**).

Les pyréthrinoides sont des substances dites neurotoxiques c'est-à-dire que leur mode d'action implique des effets délétères sur le système nerveux, Ces effets peuvent être observés au laboratoire sur des cellules neuronales, mais d'autres systèmes peuvent aussi être affectés par ces molécules (perturbations endocriniens, dommages hépatiques...) (**Couture et al., 2009**). Le mécanisme moléculaire clé pouvant intervenir dans la manifestation de la toxicité de ces insecticides est le stress oxydatif. Il a été rapporté que les pyréthrinoides peuvent stimuler la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS) causant ainsi des dommages oxydatives (**Verma et al., 2016**).

Pour se protéger, l'organisme utilise un système de défense antioxydant enzymatique et non enzymatique pour réduire les attaques des macromolécules cellulaires par les ROS.

L'objectif de notre étude est l'investigation des effets neurotoxiques potentiellement liés au stress oxydatif induit par deux insecticides pyréthrinoides (Deltaméthrine et cyperméthrine) et leur mixture binaire chez le rat *Wistar* des deux sexes (mâles et femelles). Pour cela, quatre biomarqueurs du stress oxydatif ont été étudiés chez les mâles et les femelles d'étude à savoir : l'MDA comme indicateur de la peroxydation lipidique, le GSH en terme d'un antioxydant non enzymatique et la catalase (CAT) et la Glutathion-S- Transférase (GST) comme enzymes antioxydants.

I.1. Définition

Les pyréthrinoides sont des insecticides chimiques. Ce sont des dérivés synthétiques des pyréthrines ; substance naturellement présentes dans certaines espèces de chrysanthèmes (**Figure 01**) (*Chrysanthemum cinerariaefolium* et *Chrysanthemum cineum* : retrouvées essentiellement en Afrique et en Australie). Ils sont utilisés dans l'agriculture, l'horticulture, l'environnement direct de l'homme, et des animaux, pour le traitement des ectoparasites (**Pauluhn, 1999 ; Hansen, 2001 ; Fréry et al., 2013**).

Les pyréthrinoides sont des insecticides résiduels de contact ce qui signifie que le résidu conserve la propriété insecticide et pénètre à travers la cuticule de l'insecte, ils immobilisent rapidement les organismes ciblés, et ce sont des neurotoxiques dont le mode d'action s'apparente à celui des organochlorées, affectant à la fois le système nerveux central et le système périphérique (**Regnault et al., 2005; WHO, 2005**).



Figure 01 : *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Delhay, 2008).

I.2. Classification

Les insecticides de la famille des pyréthrines se divisent en deux groupes ; on distingue des pyréthrines naturelles et des pyréthrines de synthèses :

I.2.1. pyréthrines naturelles

Extraites par divers solvants des capitules floraux de pyrèthre, les pyréthrines naturelles comprennent des esters de l'acide chrysanthémique (pyréthrine I, cinérine I, jasmoline I) et de l'acide pyréthrique (pyréthrine II, cinérine II, jasmoline II). Ce sont des liquides visqueux, insolubles dans l'eau, solubles dans les solvants organiques et les lipides. Elles sont facilement dégradées par divers agents physico-chimiques : la lumière, la chaleur, eau ... (**Brion et al., 1978**). Les pyréthrines naturelles ont l'inconvénient d'être très rapidement inactivées par la lumière ce qui limite considérablement leur usage en extérieur (**Testud et Grillet, 2007**).

I.2.2. pyréthrines synthétiques (pyréthrinoides)

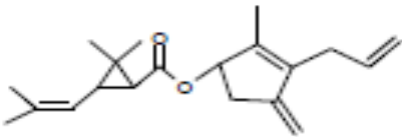
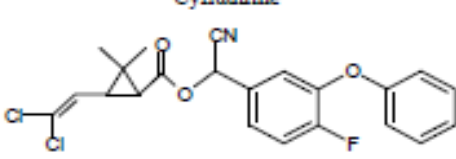
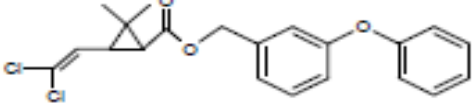
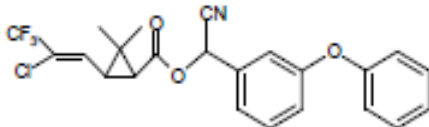
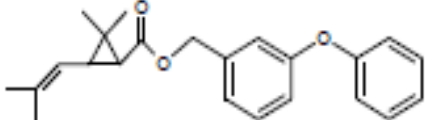
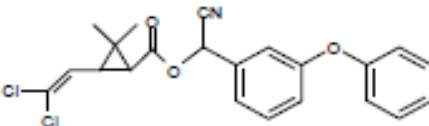
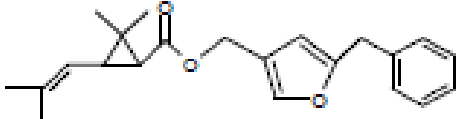
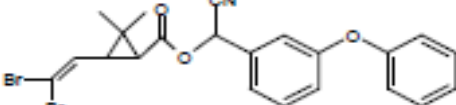
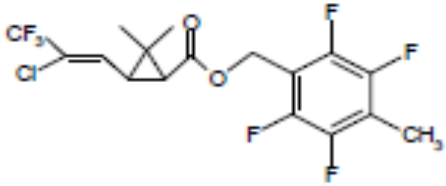
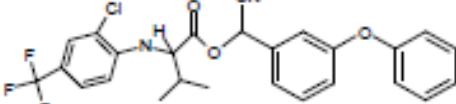
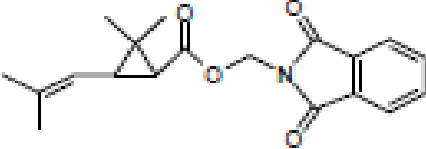
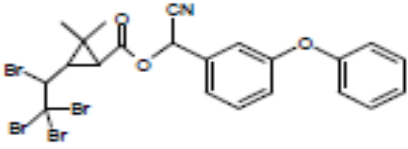
Les pyréthrinoides sont des analogues synthétiques des alcaloïdes naturelles (pyréthrine I et II, cinérine I et II, jasmoline I et II) (**Testud et Grillet, 2007**).

Le succès des pyréthrinoides de synthèse est dû à trois raisons :

- leur photo stabilité.
- leur plus grande toxicité envers les insectes, ce qui permet d'utiliser des doses plus faibles.
- leur moindre coût comparé à celui des pyréthrines naturelles (**Thacker, 2002**).

Ils sont classés en deux groupes (type I et type II) selon leur structure chimique (**tableau 01**) et leur mode d'action. Structuellement, la différence clé entre les groupes I et II est l'absence ou la présence, respectivement, d'une liaison alpha-cyanée (**Pelhate, 1985**).

Tab.1. les structures chimiques des pyréthrinoides de type I et type II (Ray, 1991).

Les pyréthrinoides de type I	Les pyréthrinoides de type II
<p style="text-align: center;">Alliéthrine</p> 	<p style="text-align: center;">Cyfluthrine</p> 
<p style="text-align: center;">Perméthrine</p> 	<p style="text-align: center;">Cyhalothrine</p> 
<p style="text-align: center;">Phénothrine</p> 	<p style="text-align: center;">Cyperméthrine</p> 
<p style="text-align: center;">Resméthrine</p> 	<p style="text-align: center;">Deltaméthrine</p> 
<p style="text-align: center;">Tefuthrine</p> 	<p style="text-align: center;">Fluvalinate</p> 
<p style="text-align: center;">Tetraméthrine</p> 	<p style="text-align: center;">Tralométhrine</p> 

I.3. Les propriétés physicochimiques des pyréthrinoides

- Les Pyréthrinoides sont moins toxiques et biodégradables
- Les pyréthrinoides sont plus solubles dans les lipides que dans l'eau, bien qu'ils puissent être lessivés des surfaces par la pluie.
- Leur volatilité demeure faible, et une fois dans l'air, ils ont fortement tendance à s'associer aux particules de poussière.
- Les pyréthrinoides synthétiques sont cependant plus stables, quoique généralement considérés comme étant plus rapidement dégradables dans l'environnement que certains autres insecticides (**Dorman et Beasley, 1991**).

I.4. Pyréthrinoides de type II : deltaméthrine et cyperméthrine

I.4.1. La Deltaméthrine

I.4.1.1. Utilisation

La deltaméthrine intervient comme matière active pour la préparation d'insecticides à usages agricole, vétérinaire et ménager.

I.4.1.2. Propriétés physiques

Tab.2. propriétés physiques de la deltaméthrine (**INRS, 1987**).

substance	Propriétés	
Deltaméthrine	Formule	$C_{22}H_{19} Br_2 NO_3$
	Etat Physique	Solide blanc
	Masse molaire	505,2g/mol
	Point de fusion	98 à 102 °C
	Point d'ébullition	Se décompose à partir de 270 °C
	Densité	0,5
	Pression de vapeur	$1,24 \cdot 10^{-5}$ à $2 \cdot 10^{-5}$ Pa à 25 °C
	Coefficient de partage n-octanol / eau (log kow)	4,6 à 25 °C
	Solubilité dans l'eau	2µg/l à 20°C

I.4.1.3. Propriétés chimiques

- La stabilité thermique de la deltaméthrine est bonne.
- Sous l'effet des rayonnements lumineux (en particulier l'irradiation solaire), la molécule de la deltaméthrine se dégrade.
- Elle présente une exceptionnelle stabilité aux acides, en milieu alcalin elle est saponifiée avec la chaux éteinte, cette réaction de saponification peut constituer si nécessaire, un moyen pratique de destruction de la deltaméthrine.
- Les fonctions présentes sur la molécule de deltaméthrine (halogène, double liaison, fonction ester, groupe nitrile) constituent autant de points d'attaque possibles de la structure par des réactifs variés (INRS, 1987).

I.4.2. La cyperméthrine

I.4.2.1. Utilisation

Traitement généraux ; toutes cultures.

I.4.2.2. Propriétés physico-chimiques

Tab.3. Propriétés physico-chimiques de la cyperméthrine (Vijverberg et al., 1982).

substance	Propriétés	
Cyperméthrine	Formule	$C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$
	Etat Physique	Liquide visqueux jaune-brune
	Masse molaire	416.3 g/mol
	Point de fusion	60 à 80 °C
	Point d'ébullition	Se décompose à partir de 270 °C
	Solubilité dans l'eau	0.01 mg/l à 20°C
	Pression de vapeur	3.1E-9mm Hg à 20 °C
	Coefficient de partage n-octanol / eau (log kow)	6,6 à 25 °C

I.5. Les voies d'exposition aux pyréthrinoides

I.5.1.Exposition par inhalation

L'inhalation ne constitue pas, à priori, la voie d'exposition principale aux pyréthrinoides. Consécutivement à une exposition aiguë (chez des travailleurs ou après une opération de contrôle des nuisibles), les effets sur le système respiratoire sont : des irritations (nez, gorge), de la toux, une respiration accélérée (**Lessenger, 1992**). Ces effets sont amplifiés chez les personnes présentant des pathologies pulmonaires sous-jacentes telles que l'asthme. Des nausées, des céphalées, une salivation excessive, des tremblements, et des convulsions ont également pu être observés chez des personnes exposées par la voie aérienne.

I.5.2.Exposition par voie orale

L'exposition par voie orale et notamment par l'ingestion d'aliments contaminés est vraisemblablement la voie majeure d'exposition aux pyréthrinoides .

Les effets rapportés sur le système gastro-intestinal de personnes consommant des quantités jugées élevée de pyréthrinoides sont des nausées des vomissements et des diarrhées (**Gotoh et al., 1998**). Des effets rénaux, hépatique ou sur le système endocrinien ne sont pas rapportés. l'ingestion de quantité importante peut provoquer des tremblements, des convulsions et des céphalées importantes.

I.5.3.Exposition par voie cutanée

L'Exposition par contact aux pyréthrinoides entraîne directement une irritation de la zone de contact (**Schoenig, 1995**). Des sensations anormales au niveau de la zone de contact peuvent être observées (**Le quesne et al, 1981 ; Tucker and Flannigan, 1983**).

I.6. Toxicité sur le cerveau

Les neurotoxiques restent la classe la plus importante qui correspond à plus de 75% du marché mondial des insecticides (**Casida, 2009**). Ils agissent au niveau du système nerveux des insectes en perturbant la transmission synaptique. Les neurotoxiques ont l'avantage d'agir rapidement et efficacement pour stopper les dégâts engendrés dans les cultures (**Casida et Durkin, 2013**). Les pyréthrinoides sont dits neurotoxiques parce qu'ils interfèrent avec la propagation des signaux neuronaux : en maintenant l'ouverture des canaux sodiques des neurones, ils permettent des influx nerveux à répétition, ou encore une dépolarisation, qui engendre différents symptômes comme des tremblements, des mouvements involontaires et la salivation chez les animaux (**Catterall, 2000**).

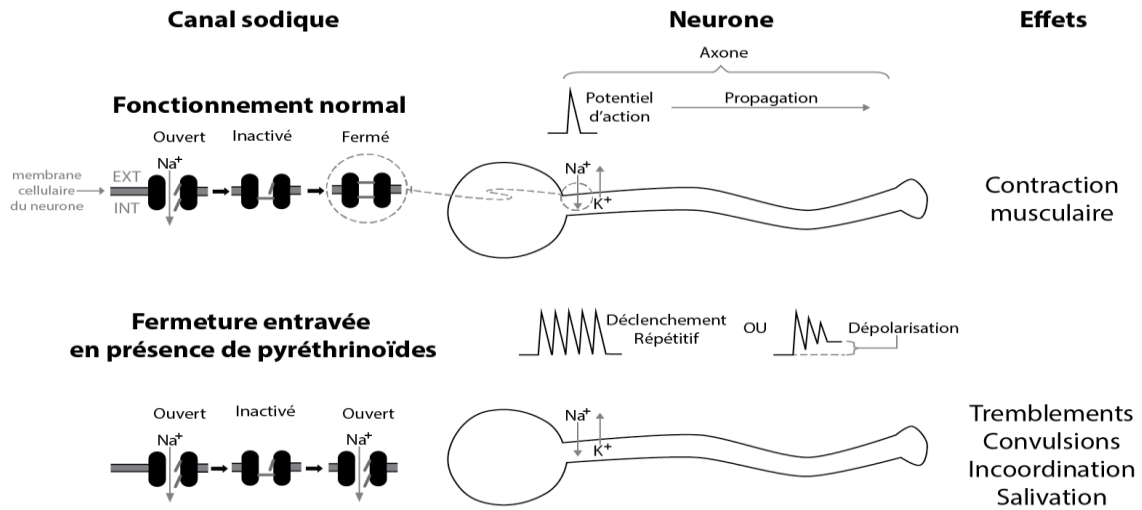


Figure 02 : Mode d’action des pyréthrinoides sur les neurones (Catterall, 2000).

Les pyréthrinoides de type I entraînent la paralysie de l’insecte alors que les pyréthrinoides de type II, qui sont plus efficaces, entraînent des mouvements convulsifs. Cette différence s’explique par le fait que les pyréthrinoides de type II prolongent l’ouverture du canal sodium plus longtemps que les pyréthrinoides de type I. Les courants sodiques sont perturbés pendant dix à cent millisecondes pour les pyréthrinoides de type I alors que cette perturbation est de quelques secondes pour les pyréthrinoides de type II (Davies et al., 2007).

Les pyréthrinoides de type II ont un deuxième mode d’action : ils agissent également sur les récepteurs GABA des canaux à chlore du système nerveux central par la fixation stéréospécifique.) (Lawrence et Casida, 1983). Cela explique la différence de symptômes observés entre les deux groupes des pyréthrinoides et l’apparition de convulsions (Valentine, 1990).

II.1. Définition

En condition physiologique, l'oxygène, élément indispensable à la vie, est transformé en molécules d'eau au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette réaction est cruciale puisqu'elle apporte à la cellule toute l'énergie nécessaire (sous forme d'ATP) pour assurer ses multiples fonctions. Le processus de réduction de l'oxygène en eau n'est toutefois pas parfait car 0.4 à 4% de l'oxygène sont transformés en espèces réactives de l'oxygène (ROS) **(Pincemail et al., 2002 ; haleng et al., 2007)**.

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les pro-oxydants et les antioxydants d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire. En faveur des premiers, ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles : les lipides avec perturbations des membranes cellulaires, les protéines avec l'altération des récepteurs et des enzymes, les acides nucléiques avec un risque de mutation et de cancérisation **(Delattre et al., 2005)**.

Un stress oxydatif peut donc se développer suite à une surproduction des oxydants comme les espèces actives de l'oxygène et/ou à une diminution des systèmes de défense antioxydants **(Djellouli, 2013)**.

II.2. Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, atome, molécule ou fragment de molécule, possédant un ou plusieurs électron(s) libre(s) (non apparié(s)) sur son orbitale externe. Cela lui confère une réactivité vis-à-vis d'autres molécules donc une demi-vie très courte (de la nano- à la milliseconde) **(Berger, 2006 ; Koechlin, 2006; Valko et al., 2007)**.

Les radicaux libres peuvent être formés : soit au cours d'une réaction redox (perte ou gain d'un électron d'une molécule non-radicalaire). Soit au cours de la rupture symétrique d'une liaison covalente d'une molécule non-radicalaire pendant laquelle chaque atome conserve son électron **(Oldham et Bowen, 1998 ; Koechlin , 2006)**.

Les radicaux libres sont des molécules très instables, auxquels manque un électron ou plusieurs électrons. Ils sont formés de façon normale dans l'organisme et sont essentiels au bon fonctionnement du métabolisme. Ils peuvent aussi provenir d'une source exogène et lors d'un trop grand apport en radicaux libres externes, il se crée un déséquilibre **(Gutteridge et Halliwell, 1993)**.

II.3. Espèces réactives oxydantes (ROS)

II.3.1. Définition des ROS

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont des dérivés de l'oxygène (**Tableau 04**), hautement réactifs et instables, participant au vieillissement des protéines, à la peroxydation lipidique, et à l'altération de l'ADN. Longtemps considérés comme des agents toxiques responsables de dysfonctions et de mort cellulaires ; il est actuellement admis que les ROS sont de véritables seconds messagers impliqués dans l'expression de gènes, et la régulation des fonctions de prolifération et de mort cellulaire (**Dhalla et al., 2000**).

Tab.4. Vue d'ensemble des espèces réactives de l'oxygène (**Macàsek et al., 2011**).

Espèces réactives de l'oxygène	Radicaux libres	L'oxygène triplet ($^3\text{O}_2$)
		L'anion superoxide ($\text{O}_2^{\circ-}$)
		Le radical hydroxy (HO°)
		Le radical alcoxyle (RO°)
		L'hydroperoxyde (H_2O°)
		Le radical peroxyde (ROO°)
	Substance non-radicalaires	Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)
		Acide hypochloreux (HNO_2)
		L'ozone (O_3)
		L'oxygène singlet ($^1\text{O}_2$)

II.3.2. Les Sources des ROS

Les ROS sont produites par deux sources principales : endogène et exogène.

II.3.2.1. Les sources endogènes

Ils sont issus du métabolisme physiologique mais ils peuvent aussi être, produits lors de « déviations » du métabolisme cellulaire. Bien que, la respiration oxydative est la principale source d'énergie pour les cellules aérobies. La mitochondrie est le principal producteur de radicaux libres, puisque dans la chaîne de transport des électrons, l'oxygène est l'accepteur final d'électrons.

Le transfert d'un électron à l'oxygène engendre le radical super oxyde ($O_2\bullet$) Transformé sous l'action du super oxyde dismutase (SOD) en peroxyde d'hydrogène(H_2O_2).

Par addition de nouveaux électrons, H_2O_2 donne naissance au radical hydroxyle ($\bullet OH$)

D'autres réactions chimiques conduisent enfin à la formation d'acide hypochloreux (HNO_2) et d'oxygène singlet sous l'action de la myéloperoxydase granulocytaire, ou encore à la formation de dérivés complexés à des catabolites du monoxyde d'azote, les peroxydinitrites (**Ben Ameer et al., 2013**).

II.3.2.2. Les sources exogènes

Les radicaux libres exogènes proviennent d'un apport extérieur, c'est-à-dire lors d'une Exposition à un environnement toxique. Les xéno-biotiques, les pesticides, les Insecticides sont seulement quelques exemples de toxines qui peuvent pénétrer au corps humain et induire la formation de radicaux libres (**Atkin et al., 2005**).

II.4. Les cibles biologiques du stress oxydant

II.4.1. Oxydation des protéines

Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des ROS les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (non- reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique). Certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire (**Atkin et al., 2005**).

II.4.2. Peroxydation lipidique

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical pyroxyde. Cette réaction appelée **peroxydation lipidique** forme une réaction en chaîne car le radical pyroxyde formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical diène conjugué (**Esterbauer et al., 1992**). Les hydro peroxydes peuvent subir plusieurs modes d'évolution : être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase ou continuer à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes acides et en alcanes (éthane, éthylène, pentane) qui, de par leur volatilité, sont éliminés par voie pulmonaire. Le radical pyroxyde, après évolution en un peroxyde cyclique et coupure de la molécule, peut libérer différentes aldéhydes toxiques dont le malonalaldéhyde.

La transmission en chaîne de la réaction de peroxydation lipidique est stoppée par la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidique des membranes. Cette attaque des lipides peut concerner les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides membranaires.

Les conséquences seront différentes : l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL (lipoprotéines de densité légère) oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires, l'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (**Cadet et al., 2002**).

II.4.3. Oxydation de l'ADN

L'augmentation du flux de radicaux libres peut générer une variété de lésions de l'ADN incluant fragmentation de l'ADN, modifications oxydatives des bases (8-hydroxydésoxyguanosine) et diverses mutations. De plus, les produits de la lipo-peroxydation réagissent avec l'ADN pour former divers types d'adduits tels que des éthénobases. L'acétaldéhyde réagit également avec l'ADN pour former des adduits spécifiques dont le composé prévalent est la N2-éthyl-désoxyguanosine (N2-Et-dG) (**Brooks, 1997**).

II.5. Les systèmes de défense antioxydants

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction d'ROS. Le terme d'antioxydant désigne toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat (**Halliwell et Gutteridge, 1990**).

Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine : système enzymatiques et systèmes non enzymatiques (**Delattre et al., 2005**).

II.5.1. Les systèmes enzymatiques

II.5.1.1. Les superoxyde dismutases (SOD)

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion super-oxyde $O_2^{\bullet-}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. Chez l'homme, on décrit 3 iso enzymes : la Cu/Zn-SOD1 cytosolique, la Mn-SOD2 mitochondriale et la Cu/Zn-SOD3, qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire. La SOD3 est sécrétée par les cellules musculaires lisses et constitue le système antioxydant majeur de la paroi artérielle : son expression et sa sécrétion sont augmentées par les facteurs actifs (histamine, endothéline 1, angiotensine II) et diminuées par l'homocystéine (**Hozawa et al., 2007**).

II.5.1.2. La glutathion peroxydase (GPx)

L'enzyme glutathion peroxydase (GPx) est l'antioxydant endogène principal du corps humain ; son rôle est de catalyser la réduction du H₂O₂ en eau et la réduction des hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools (**Rodrigo, 2009**). Il existe au moins 8 types de GPx, les plus étudiés étant GPx 1, GPx 2, (gastro-intestinal) , GPx 3 (plasma) et GPx 4 (phospholipide hydroperoxydase) . contenant tous les quatre du sélénium, GPx 4 se distingue par sa structure monomérique, alors que GPx 1, GPx 2 et GPx 3 sont des protéines homotéramériques (**Muller et al., 2007**).

L'enzyme la plus courante dans l'organisme est GPx 1, qui se trouve en effet dans le cytoplasme de la plupart des cellules. Alors que GPx 1 réduit principalement le peroxyde d'hydrogène, GPx 4 réagit surtout avec les hydroperoxydes lipidiques, ce qui lui confère un rôle important de protection des membranes lipidiques contre la peroxydation des lipides (**Brigelius et al., 1994**).

L'importance du GPx a été démontrée, non seulement dans la prévention de pathologies comme le cancer ou les maladies cardiovasculaires, mais aussi comme potentiel traitement (**Lubos et al., 2011**).

II.5.1.3. La catalase (CAT)

Les catalases sont des hémoprotéines (**Bourdon, 2004**). Capables de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. Elles sont essentiellement présentes dans les peroxysomes, les érythrocytes, les hépatocytes, et les reins.

Deux types de méthodes peuvent être utilisés pour mesurer l'activité de la catalase, soit la diminution de la concentration de peroxyde d'hydrogène, soit la formation d'oxygène. Ces méthodes sont très sensibles mais nécessitent des conditions expérimentales strictes comme par exemple l'absence d'oxygène (**Johansson et Borg, 1988**).

II.5.1.4. La glutathion S transférase (GST)

Les glutathion S-transférases représentent une superfamille d'enzymes multifonctionnelles activent durant la phase II du métabolisme des xénobiotiques. Ces protéines sont retrouvées chez les vertébrés comme les invertébrés et sont principalement localisées au niveau du cytosol. Elles sont impliquées dans le transport intracellulaire, la biosynthèse d'hormones et jouent un rôle protecteur contre le stress oxydatif.

Les GSTs catalysent principalement une réaction de conjugaison qui permet d'associer le substrat au groupement thiol de la molécule de glutathion réduit (GSH). Cette conjugaison neutralise les sites électrophiles des substrats pour protéger les différents composés de la cellule (**Enayati et al., 2005**).

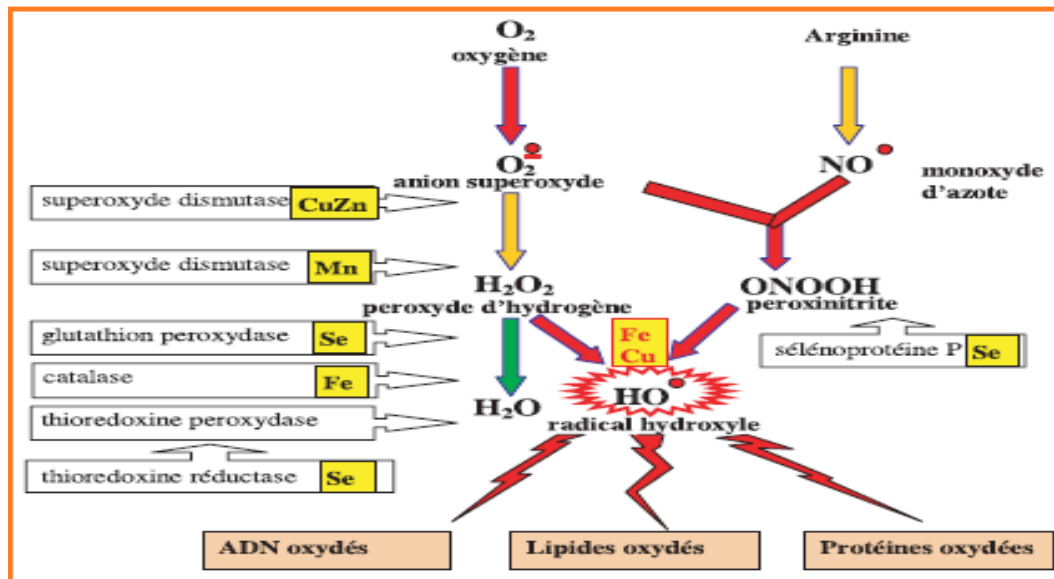


Figure 03 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Esterbauer et al., 1992).

II.5.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques

II.5.2.1. Glutathion GSH

Le glutathion réduit (GSH), réduit le peroxyde d'hydrogène et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la glutathion peroxydase (GPx). Il peut aussi réduire les radicaux formés par l'oxydation des vitamines E et C, baissant ainsi les niveaux de peroxydation lipidique (Packer et al., 1997; Power et Lennon, 1999). Le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) est souvent utilisé comme un marqueur du stress oxydant car plus le flux d' H_2O_2 est important, plus le glutathion réduit est consommé et le glutathion oxydé augmenté (Ji et al., 1992).

II.6. Le stress oxydant et les pyréthrinoides

Les pesticides sont considérés comme des facteurs de risque pour la santé, à partir de l'augmentation de la production de radicaux libres qui s'accumulent en outre dans la cellule, par l'altération des mécanismes de défense antioxydante (Gamet, 2011). Le stress oxydatif a été rapporté jouer un rôle important dans la toxicité de divers pesticides, y compris les pyréthrinoides (Singh et al., 2009), qui sont métabolisés dans le foie par clivage d'ester, et par oxydation hydrolyse par les enzymes CYP 450, ce qui induit la production des ROS (Reactive Oxygen Species (Klimek, 1990)).

Objectif

L'objectif de notre étude est l'investigation des effets neurotoxiques potentiellement liés au stress oxydatif induit par la toxicité sub-chronique des deux insecticides pyréthrinoides (deltaméthrine et cyperméthrine) et leur mixture binaire chez le rat *Wistar* des deux sexes (mâles et femelles). Pour cela, une enquête a été réalisée concernant l'utilisation de ces pesticides dans la région de Jijel. Et sur le plan expérimental quatre biomarqueurs du stress oxydatif ont été étudiés à savoir : l'MDA, GSH, CAT et GST.

III.1. Enquête

Nous avons effectuées une enquête à la fin du mois de mars de l'année 2017, sur les pesticides les plus couramment utilisés dans la région Est de la willaya de Jijel à savoir El kennar, Bazol, et Djimar auprès des agriculteurs et des services agricoles.

III.2. Evaluation de l'activité prooxydante des deux insecticides (CYP et DEL) sur le cerveau

III.2.1. Les animaux

L'étude a été réalisée sur 40 rats *albinos Wistar* : 20 femelles et 20 mâles, provenant de l'institut Pasteur d'Alger (centres d'élevages El-Kouba, Alger). Agées de huit semaines, et ayant un poids corporel compris entre 200 et 250 g ils sont des mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans divers domaines de recherche scientifique. Ils ont été soumis à une période d'adaptation de 10 jours où ils sont conservés dans des conditions standard de gestion avec une température de 25⁰C, hygrométrie de 55 plus ou moins 10% et un cycle jour-nuit (12H-12H), avec disponibilité d'alimentation et de l'eau potable à libre accès (au niveau de l'animalerie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, université de Jijel).

Les rats ont été mis dans des cages en plastique tapissées d'une litière constituées de copeaux de bois, où ils peuvent avoir de la nourriture standard (croquette) et de l'eau à volonté, les cages ont été nettoyées un jour par 2 régulièrement avec renouvellement de la litière jusqu'à la fin de l'expérimentation.

III.2.2. Traitement des animaux

Notre étude est consacrée à l'étude *in vivo* des effets neurotoxiques des pyréthrinoides liés au stress oxydant chez les deux sexes mâles et femelles des rats *Wistar*

Après 10 jours de l'adaptation, les animaux ont été répartis en huit (08) lots expérimentaux homogènes (quatre (04) lots de femelles et quatre (04) lots de males) de cinq (5) rats chacun, ils ont reçu les différents traitements selon des doses qui ont été choisies à partir de la NOEL pour la CYP (7.5mg/kg) et de la DL50 pour la DEL 1/100 (1.28mg/kg) par voie orale.

Lot 1 : Rats témoins recevant quotidiennement l'huile de maïs considérée comme molécule véhicule.

Lot 2 : Rats traités recevant la cyperméthrine (CYP) dissoute dans l'huile de maïs, à la dose de 7.5 mg /kg de poids corporel chaque jour pendant 75 jours du traitement.

Lot 3: Rats recevant la Deltaméthrine(DEL) dissoute dans l'huile de maïs, à la dose de 1.28 mg /kg de poids corporel chaque jour pendant 75 jours du traitement.

Lot 4: Rats traités recevant une mixture des deux pyréthrinoides (CYP+DEL) dissoute dans l'huile de maïs, à la dose de 8.78 mg /kg de poids corporel chaque jour pendant 75 jours du traitement.

III.2.3. Sacrifice des animaux et prélèvement du cerveau

A la fin de l'expérimentation (après 75 jours), les rats de chaque lot ont été asphyxiés à l'aide de l'éther de pétrole, puis ouverts centralement pour le prélèvement de l'organe d'intérêt (cerveau).

Au moment du sacrifice, le cerveau de chaque rat est soigneusement prélevé, lavé dans une solution de NaCl 9% puis conservé à (-20⁰C) jusqu'à l'analyse.

La figure (3) schématise les différentes étapes du protocole expérimental utilisé.

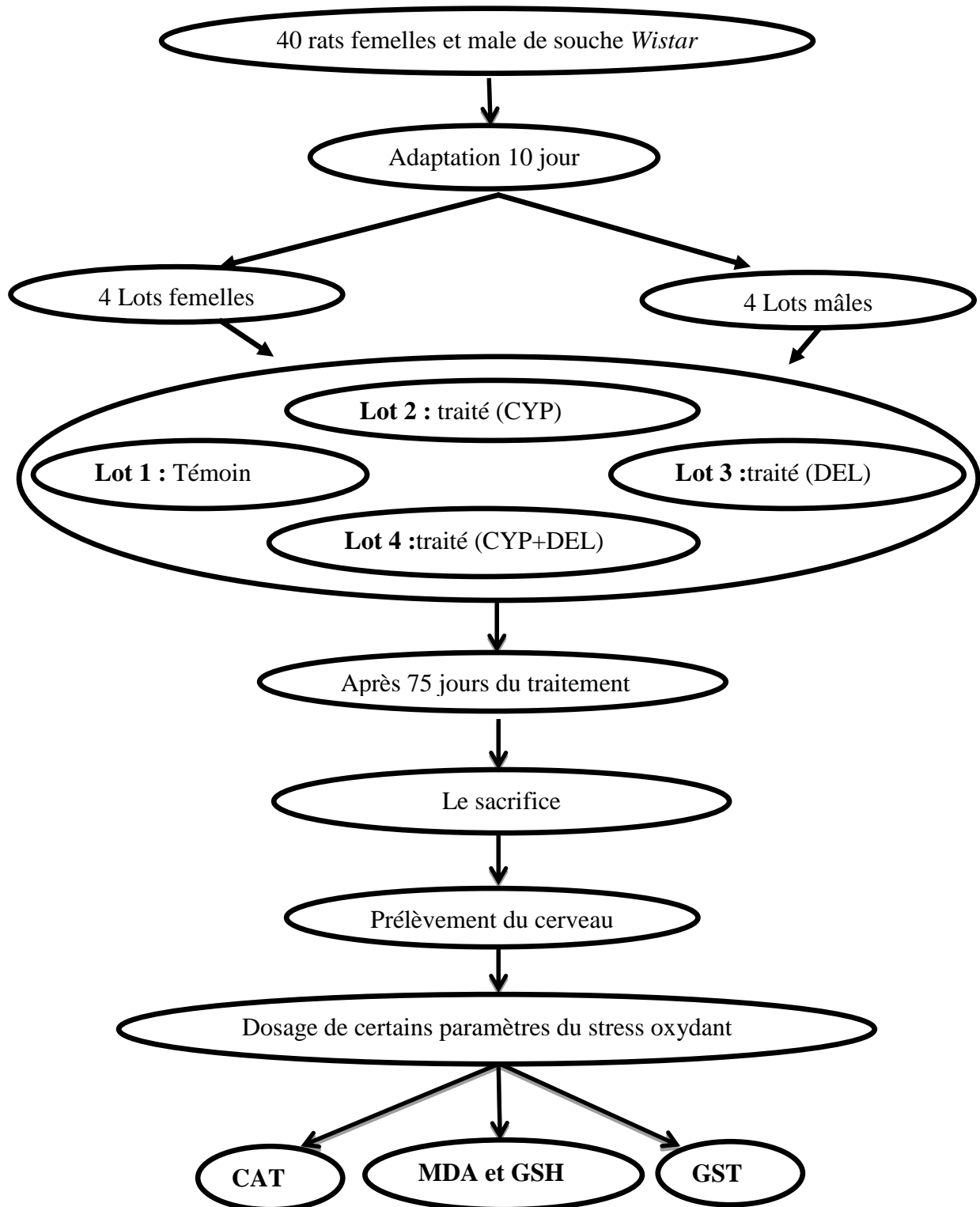


Fig.3. Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

III.2.4. Préparation de la fraction cytosolique

III.2.4.1. Préparation de la fraction cytosolique pour le dosage de l'MDA et du GSH

Pour préparer la fraction cytosolique on a suivi la méthode décrite par **(Iqbal et al.2003)**. Pour cela, 0.5 g du cerveau a été prélevé et directement plongé dans trois volumes de tampon phosphate KH_2PO_4 (0.1 M à PH 7.4) contenant du KCL 1/3 (w/v). Après découpage en morceaux fins et homogénéisation à l'aide du broyeur de DOUNCE, l'homogénat est centrifugé à 2000g/min pendant 15 minutes. Le surnageant final est conservé aux conditions de congélation à 4°C.

III.2.4.2. Préparation de la fraction cytosolique pour l'évaluation de l'activité enzymatique de la CAT et de la GST

Pour préparer la fraction cytosolique pour l'activité enzymatique de la CAT et GST on utilise le tampon TSE (tris 50mM, sucrose 250 mM, EDTA 1mM ; PH 7.4) préparé et conservé à froid.

Pour préparer la fraction cytosolique on a suivi la méthode décrite par **Clayton et Doda (2001)**. Brièvement, 0.5 g du cerveau est plongé dans trois volumes du tampon froid (TSE) 1/3 (w/v), après homogénéisation l'homogénat est centrifugé à 3500g pendant 10min. on conserve le surnageant dit S1 et on fait une deuxième centrifugation de la même manière pour le culot et dans les mêmes conditions donnant un surnagent dit S2. Après, le mélange (S1+S2) est centrifugé à 15000 g pendant 20 min i; le surnagent est utilisé comme source enzymatique.

III.2.5. Dosage des protéines

III.2.5.1. Principe

Les protéines totales sont dosées par la méthode de **Bradford (1976)** ; C'est une méthode d'analyse spectrophotométrie utilisée pour déterminer la concentration des protéines en solution, Cette méthode est basée sur le changement de coloration du réactif de Bradford, Bleu Brillant de Coomassie, qui développe en présence de protéines une coloration bleu quantifiable à 590 nm, et dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de protéines présente dans l'échantillon. Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle en utilisant la BSA.

III.2.5.2. Méthode de dosage

Les protéines des échantillons (cerveau) ont été dosées en faisant réagir avec 1ml de réactif de Bradford est avec 50ul de l'extrait enzymatique ; après incubation pendant 30 min la lecture des absorbances a été effectuée par spectrophotomètre à 590 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions.

III.2.6. Méthodes de dosage des paramètres du stress oxydant

III.2.6.1. Dosage dumalon dialdéhyde

III.2.6.1.1. Principe

Le Malondialdéhyde (MDA) est l'un des produits terminaux formés lors de la peroxydation lipidique qui résulte de la coupure, médiée par les radicaux libres, des acides gras polyinsaturés possédant au moins trois doubles liaisons.

Selon la méthode d'**Okhawa et al (1979)**, le dosage du MDA repose sur la formation en milieu acide à chaud (100°C), entre une molécule du MDA et deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA), d'un pigment coloré (couleur rose) absorbant à 560 nm et extractible par les solvants organiques comme HCl.

III.2.6.1.2. Méthode de dosage :

Pour ce dosage, on résumé 0.5 ml de l'homogénat cytosolique et additionné à 1.5 ml du milieu réactionnel (0.188g de TBA, 7.5g TCA, 1.02 ml HCl). Le mélange est chauffé à 100°C pendant 30 min, après refroidissement, ce mélange est soumis ensuite à une centrifugation à 16000 rpm pendant 10 min.

La densité optique est mesurée sur le surnagent à 532 nm par le spectrophotomètre, le taux du l'MDA est calculé par le coefficient d'extinction molaire de TBARS= 1.56×10^5 M.

III.2.6.2. Dosage du glutathion réduit (GSH)

III.2.6.2.1. Principe :

Pour le dosage du glutathion, la méthode colorimétrique d'**Ellman (1959)** est celle adoptée. La réaction consiste à couper la molécule d'acide 5,5dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB) lequel à pH (8-9) alcalin présente une absorbance à 412nm.

III.2.6.2.2. Méthode de dosage

Pour cela 50 µl de la source enzymatique est dosé avec 1200 µl de tampon phosphate (0.2 M, PH 6.8, contenant 1mMde DTNB) ; après 15 min d'incubation, la lecture de la densité optique est effectuée à 412nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions.

III.2.6.3. Evaluation de l'activité catalasique

III.2.6.3.1. Principe

L'activité enzymatique de la catalase est déterminée selon la méthode de **Claiborne (1985)**, elle est basée sur la diminution de l'absorbance à 560nm qui est due à la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) par la catalase.

III.2.6.3.2. Méthode de dosage

50 µl de la source enzymatique est mélangée avec 1ml du tampon phosphate (0.1 M, PH 7.1) ; au moment de la lecture spectrophotométrie, on ajoute 0.950 ml de H₂O₂, La lecture est effectuée à 560nm chaque minute pendant deux minutes.

L'activité enzymatique est exprimée en UI/mg de protéine selon la relation suivante :

$$\text{UI/mg de protéine} = (2.3033/T \times \log A1/A2) / \text{mg protéines.}$$

Sachant que :

A1 : absorbance au temps 0 min.

A2 : absorbance après 1 min.

T : intervalle de temps en min.

III.2.6.4. Evaluation de l'activité enzymatique de la Glutathion S-Transférase

III.2.6.4.1. Principe

L'activité de la GST est évaluée selon la méthode de **Habig** et ses collaborateurs (1974).

Elle consiste à fournir à l'enzyme un substrat, en général du chlorodinitrobenzène (CDNB) préparé dans l'éthanol, qui réagit facilement avec de nombreuses formes de GST et de glutathion. En présence du glutathion réduit (GSH) l'enzyme permet le transfert du glutathion riche en électron (GSH+ GS⁰+H⁺) sur le CDNB chargé positivement par gain d'un proton.

III.2.6.4.2. Méthode de dosage

Le mélange réactionnel contient du tampon phosphate (0.1 M, pH 6.5) 2ml GSH, 100µl CDNB et 100µl de la source enzymatique. La variation de la densité optique est lue chaque minute pendant 5 min à 344 nm, l'activité est calculée en utilisant le coefficient d'extinctions molaire de CDNB ($\epsilon = 9600\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Les résultats sont exprimés par UI/mg de protéines.

III.3. Traitement statistique

Les résultats sont donnés sous forme de moyennes et écart-types. L'évaluation statistique est effectuée en comparant des moyennes des groupes traités par les insecticides : Cyperméthrine et Deltaméthrine, ou leur association à celles des groupes témoins en utilisant le test de la variable « t » de Student et l'analyse statistique est effectuée en utilisant le logiciel STATISTICA (version 7). Toutes les analyses sont réalisées au seuil de signification 5%. Pour la valeur P , des astérisques(*) sont utilisées afin d'indiquer l'importance de la signification pour la comparaison des différents échantillons avec les rats témoins:

- $P > 0.05$ = la différence n'est pas significative.
- $p < 0.05$ = la différence est significative*.

IV.1. Résultat de l'enquête

De l'étude consacrée à la démonstration de l'effet toxique de la deltaméthrine et la cyperméthrine, l'enquête réalisée nous a mené à établir une liste de pesticides les plus utilisés dans la région Est de la Wilaya de Jijel. On constate qu'ils sont 40 pesticides répartis entre les différentes familles chimiques. Parmi les 40 pesticides existants, on a enregistré une large utilisation des insecticides (55%), suivie par les fongicide (40%), et les herbicides avec seulement 5%. Les résultats de l'enquête sont résumés dans le diagramme circulaire qui suit (**Figure 05**) :

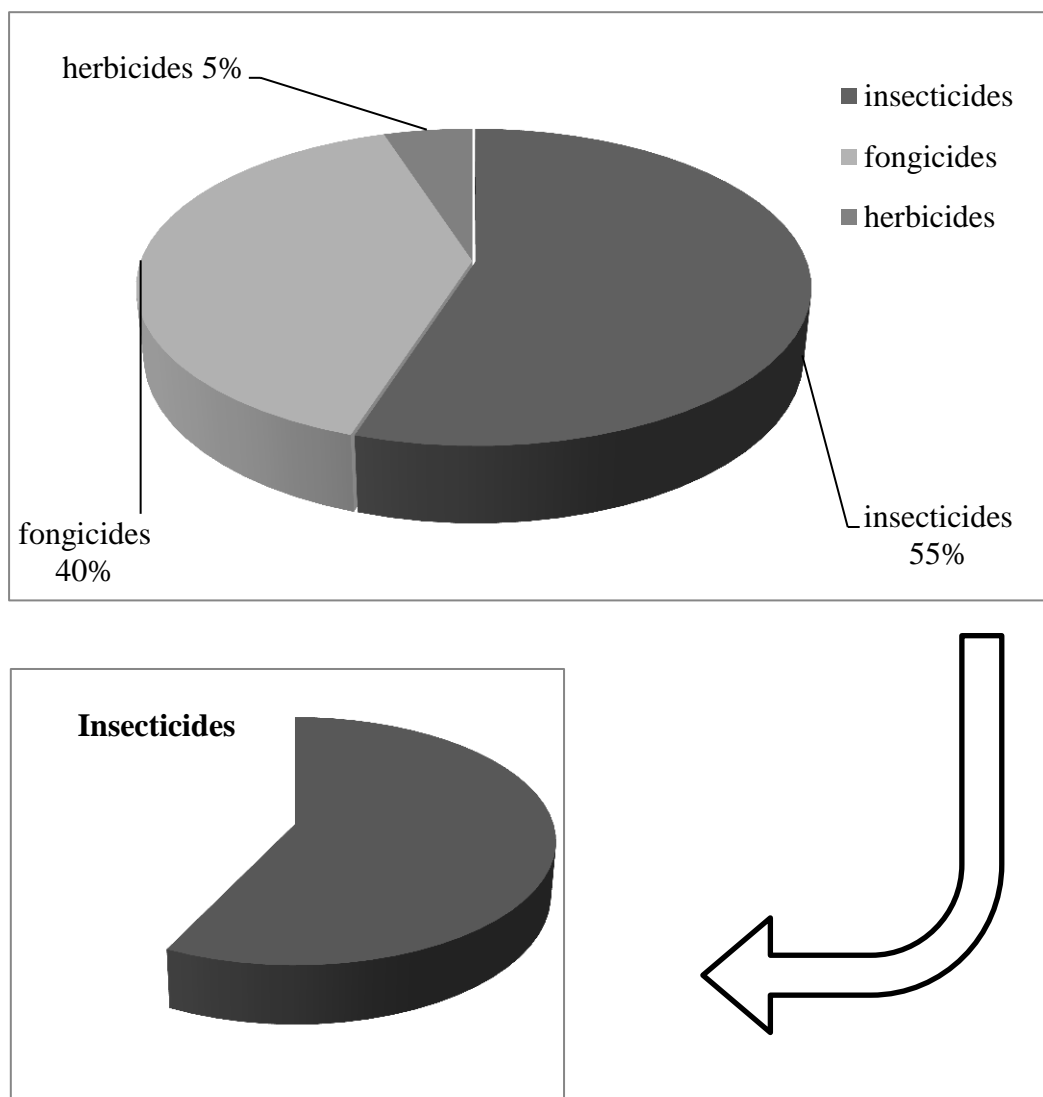


Figure 05 : Représentation des pesticides les plus utilisés dans la région Est du Jijel.

Parmi les 55% des insecticides, les pyréthrinoides faisant les insecticides de choix de notre étude, représentent les insecticides de la première intention avec un pourcentage de 55% de l'ensemble des insecticides utilisés dans la région de Jijel.

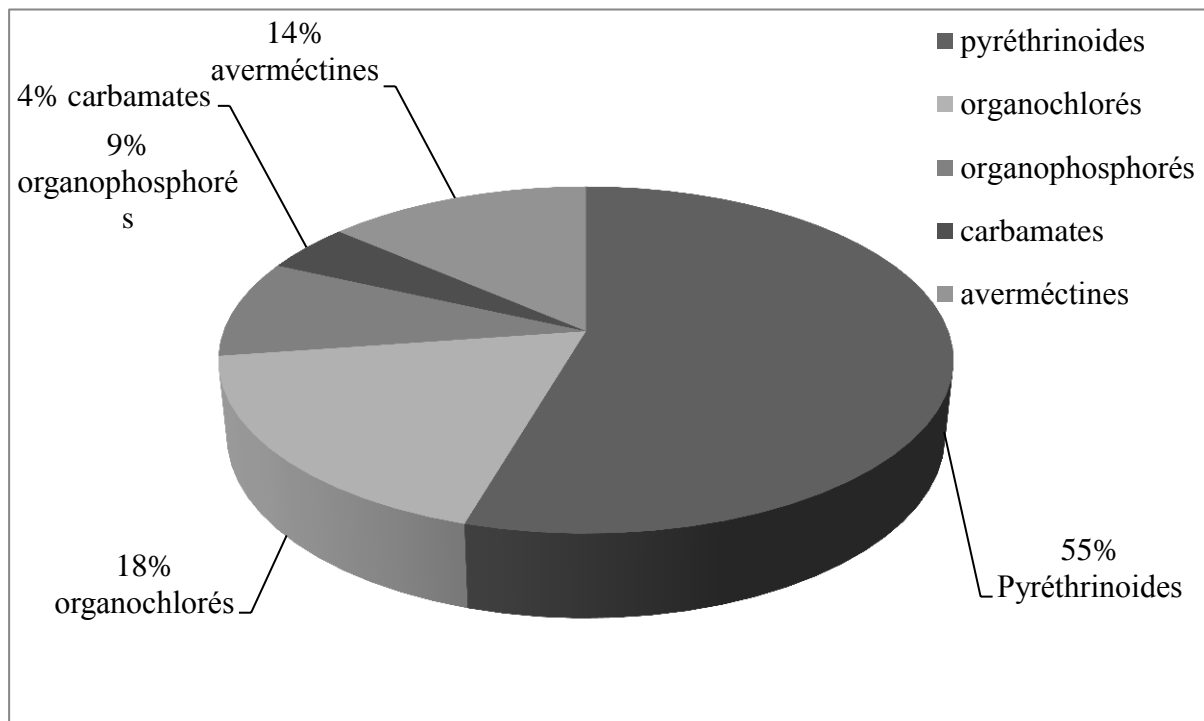


Figure 06 : Représentation de la place des pyréthrinoides au sein des différentes familles des insecticides couramment utilisés dans la région de Jijel.

IV.2. Evaluation des paramètres du stress oxydant

IV.2.1. Evaluation de la peroxydation lipidique cytosolique

Les résultats de la variation du taux de MDA cytosolique chez les rats *Wistar* (mâles et femelles) traités par la deltaméthrine, la cyperméthrine et la mixture des deux insecticides sont représentés dans la figure 07.

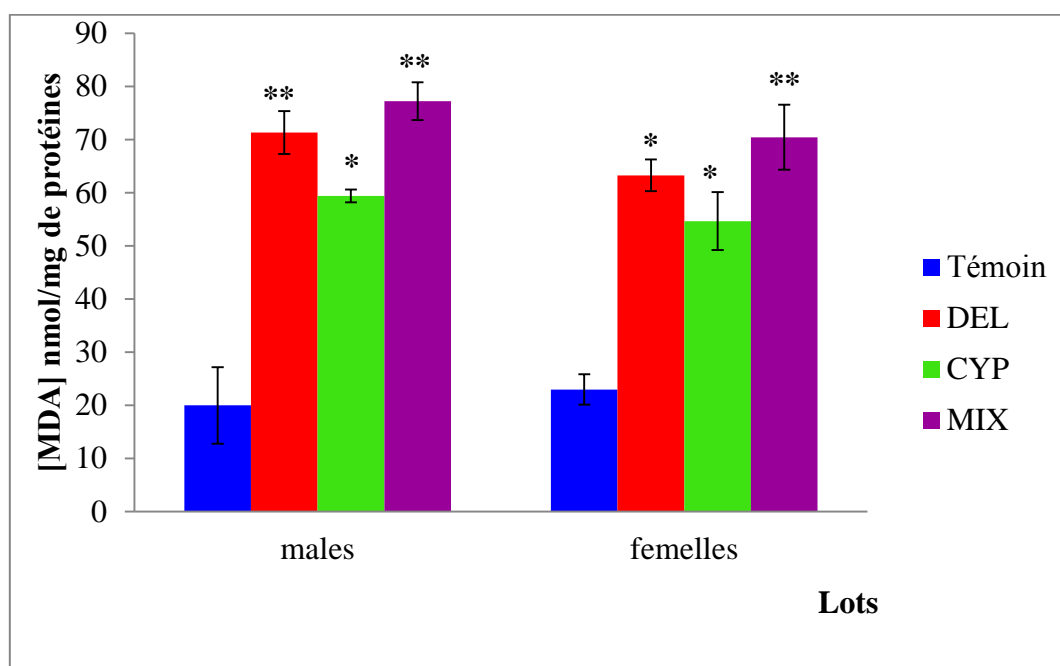


Figure 07 : Variation du taux de MDA cytosolique (nmol/mg de protéines) chez les rats *Wistar* mâles et femelles traités par la deltaméthrine, la Cyperméthrine et la mixture.

D'après la **figure 07**, Chez les mâles, on constate une augmentation du taux de l' MDA d'une façon hautement significative ($p < 0.01$) chez les rats traités par la deltaméthrine et significative ($p < 0.05$) chez les rats traités par la cyperméthrine par rapport au témoin. Et on constate que les rats traités par la mixture montrent une augmentation hautement significative par rapport aux témoins. Chez les femelles, on constate une augmentation du taux du MDA d'une façon significative ($p < 0.05$) chez les rats traités par la deltaméthrine et la cyperméthrine et on constate que les rats traités par la mixture montrent une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) par rapport aux témoins.

En effet ; pour la peroxydation lipidique, le taux de l'MDA augmente d'une façon hautement significative chez les mâles gavés par la deltaméthrine, par contre il augmente significativement chez les femelles, et pour la cyperméthrine l'augmentation est significative chez les deux sexes.

IV.2.2. Evaluation du taux de glutathion (GSH)

Les résultats de la variation du taux de GSH cytosolique chez les rats *wistar* (mâles et femelles) traités par la deltaméthrine, la cyperméthrine et la mixture des deux insecticides sont représentés dans la figure 08.

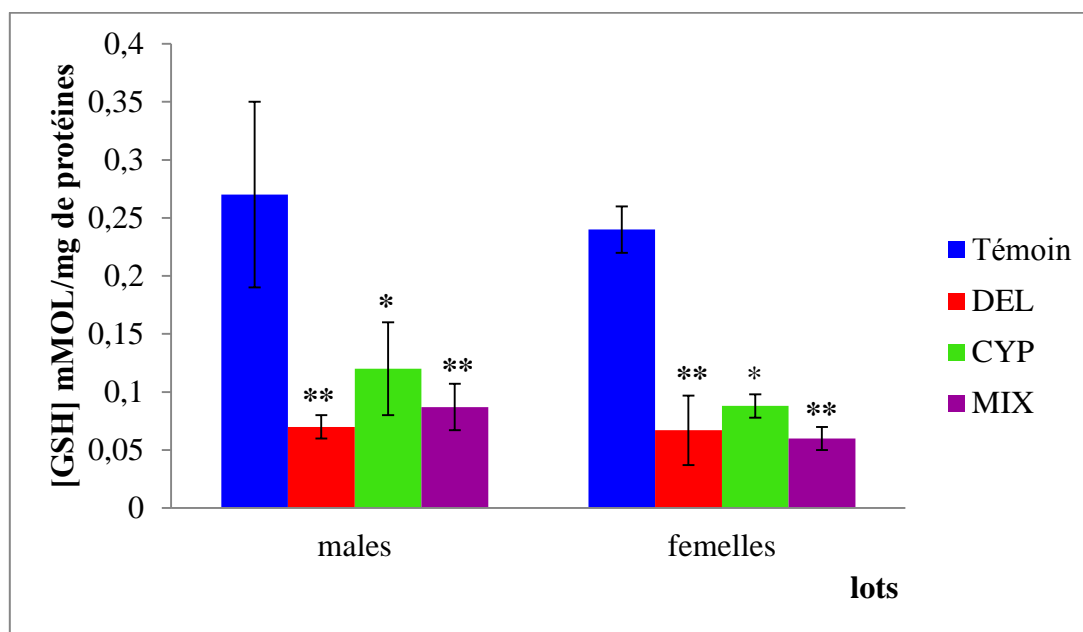


Figure 08 : Variation de taux de GSH cytosolique (mmol/mg de protéines) chez les rats *wistar* mâles et femelles traités par la deltaméthrine, la cyperméthrine et la mixture.

Les résultats représentés dans la **figure 08** montrent que :

Chez les mâles, une diminution hautement significative ($p < 0.01$) des taux de GSH chez les rats traités par la deltaméthrine (74.07%) et la mixture (67.77%). La cyperméthrine diminue significativement ($p < 0.05$) le taux du GSH cytosolique (55.55%) par rapport aux groupes témoins correspondants.

Chez les femelles, le même comportement a été constaté chez les rats traités par la deltaméthrine, la mixture et la cyperméthrine avec des pourcentages d'inhibition de 72.08%, 75% et 63.33% successivement.

En effet ; le taux de la glutathion réduit est hautement significativement diminué avec la deltaméthrine et la mixture chez les deux sexes, et seulement une diminution significative chez les mâles et les femelles gavés par la cyperméthrine.

IV.2.3. Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase

Les résultats de la variation de l'activité catalasique cytosolique chez les rats *Wistar* (mâles et femelles) traités par la deltaméthrine, la cyperméthrine et la mixture des deux insecticides sont représentés dans la **figure 09**.

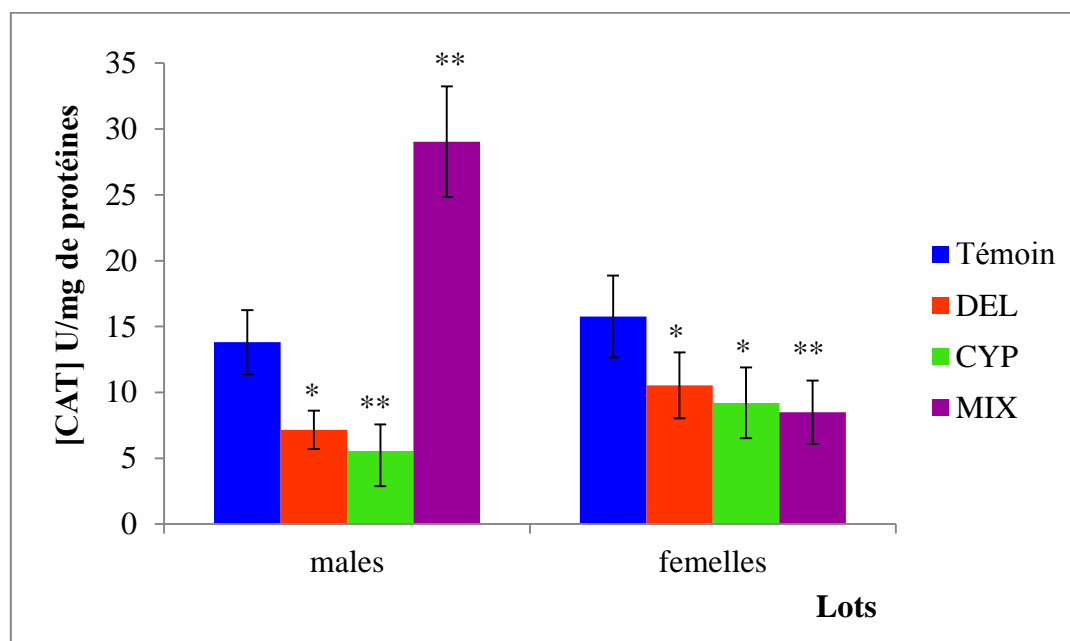


Figure 09 : Variation de l'activité enzymatique de la CAT cytosolique (U/mg de protéines) chez les rats *Wistar* mâles et femelles traités par la deltaméthrine, la cyperméthrine et la mixture.

Les résultats représentés dans la **figure 09** montrent que :

Chez les mâles, une diminution significative ($p < 0.05$) de l'activité enzymatique de la catalase chez les rats traités par la deltaméthrine (48.26%) et hautement significative chez les rats traités par la cyperméthrine (59.76%). A noter, une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) a été enregistrée chez les rats traités par la mixture par rapport au groupe témoin.

Chez les femelles, une diminution significative ($p < 0.05$) de l'activité enzymatique de la catalase chez les rats traités par la deltaméthrine (33.12%) et la cyperméthrine (41.56%), et une diminution hautement significative ($p < 0.01$) chez les rats traités par la mixture 46.06% par rapport au groupe témoin.

En effet ; l'activité de la Catalase est significativement diminuée chez les deux sexes, et seulement une diminution hautement significative a été notée chez les mâles gavées par la cyperméthrine.

IV.2.4. Evaluation de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST)

Les résultats de la variation de l'activité enzymatique de la GST chez les rats *Wistar* (mâles et femelles) traités par la deltaméthrine, la cyperméthrine et la mixture des deux insecticides sont représentés dans la **figure 10**.

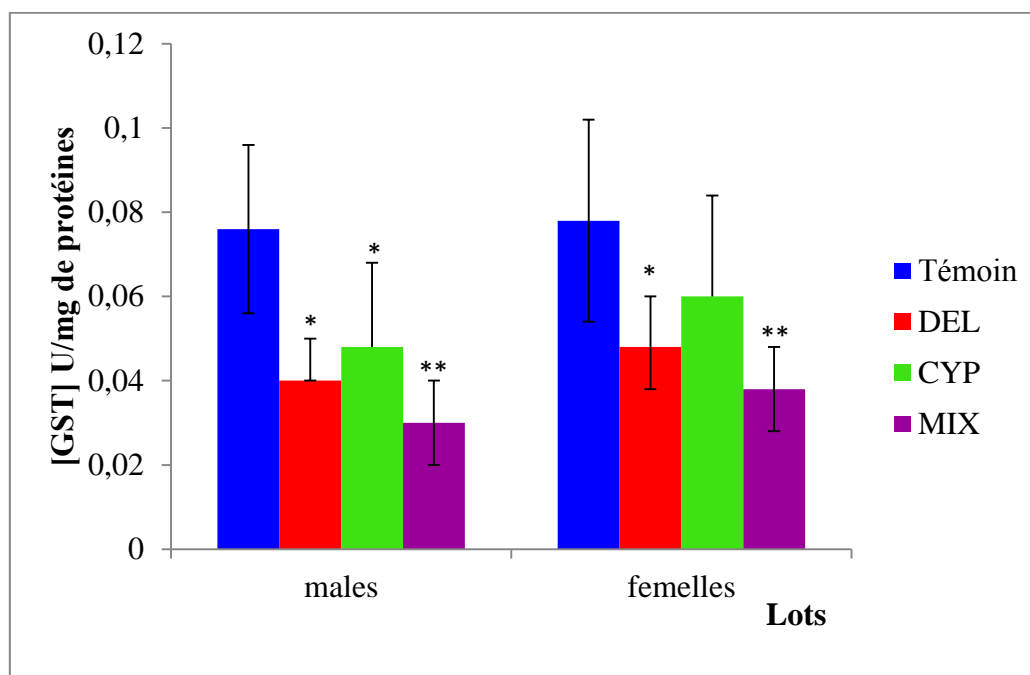


Fig.10. Variation de l'activité enzymatique de GST cytosolique (U/mg de protéines) chez les rats *wistar* mâles et femelles traités par la deltaméthrine, la cyperméthrine et la mixture.

D'après les résultats représentés dans la **figure 10** :

Chez les mâles, on constate une diminution significative ($p < 0.05$) de l'activité enzymatique de la GST chez les rats traités par la deltaméthrine (47.36%) et la cyperméthrine (36.84%), et une diminution hautement significative ($p < 0.01$) chez ceux traités par la mixture (60.52%) en comparant avec le groupe témoin.

Chez les femelles, on constate une diminution significative ($p < 0.05$) de l'activité enzymatique de la GST chez les rats traités par la deltaméthrine (38.46%) et non significative ($P > 0.05$) chez les rats traités par la cyperméthrine (23.07%), et une diminution hautement significative ($p < 0.01$) chez celles traitées par la mixture (51.28%) par rapport au groupe témoin.

En effet ; l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase est significativement diminuée chez les rats mâles et femelles, et non significativement diminuée chez les femelles traitées par la cyperméthrine.

IV.3. Discussion

L'application extensive des pesticides est habituellement accompagnée par des graves problèmes de pollution et de risques pour la santé. Il est établi que de nombreux pesticides, d'usage courant, peuvent produire des substances toxiques et effets néfastes sur différents systèmes biologiques. Lorsqu'ils sont testés sur différents types d'animaux expérimentaux à travers leur mode d'action ou par production des radicaux libres qui endommagent toutes les cellules composantes (**Khan, 2006**). Les pesticides agissent comme des pro-oxydants et provoquent des effets sur plusieurs organes (**Limon-Pacheco et Gonsebatt, 2009**). Parmi ces pesticides, nous citons en l'occurrence les pyréthrinoides, exemple de deltaméthrine et cyperméthrine, qui ont peu à peu remplacé les insecticides organophosphorés à cause de leur toxicité avérée pour les mammifères selon les résultats de plusieurs études, mais une grande efficacité sur leurs cibles (**Pauluhn, 1999**). Cependant, cette alternative ne prête pas confiance à l'homme étant donné que plusieurs résultats de recherche montrent déjà une affirmation de la toxicité des pyréthrinoides sur l'organisme humain (**Nieradko-Iwanicka et Borzecki, 2016**).

Le cerveau est considéré comme particulièrement sensible aux stress oxydatif car il a une consommation massive en oxygène et un système antioxydant déficient, les pyréthrinoides souvent accumulés dans le cerveau à cause de leur haute lipophilie (**Rammal et al., 2010**). Un certain nombre de toxiques exogènes, agissant notamment en provoquant un stress oxydant intense au niveau cérébral (**Nagakannan et al., 2012**). Dans beaucoup de troubles du système nerveux central, un constat revient régulièrement : beaucoup de ces troubles sont accompagnés par des anomalies dans le métabolisme du glutathion et les défenses antioxydantes. Plusieurs toxiques sont connus pour se lier au glutathion dans le cerveau et y diminuer sa teneur. Ils rendent ainsi le cerveau plus vulnérable aux attaques par les radicaux libres (**Fonnum et Lock., 2004**). L'activité antioxydante du GSH et de la CAT et la GST, limite les effets délétères des ROS par leur effet piègeur alors que la surproduction des ROS limite l'activité de ces enzymes (**Soderlund et al., 2002**).

La deltaméthrine semble avoir un effet direct sur les neurones (**Soderlund et al., 2002**), et est souvent utilisée comme un neurotoxique modèle pour l'étude de la dégénérescence neuronale et de la mort des cellules neuronales retardées (**Aziz et al., 2001**). De manière intéressante, la cyperméthrine, induit un déficit locomoteur équivalent au déficit provoqué par les néonicotinoïdes. Ces déficits pourraient trouver leur origine dans la neurotoxicité des pyréthrinoides, qui agissent sur les neurones du cerveau (**Kadala et al., 2014**).

La peroxydation lipidique étant l'effet le plus anciennement connu des radicaux libres et le plus simple à mesurer (**Lemoyne et al., 1987**). Le dosage le plus utilisé est le dosage du malondialdéhyde (MDA), c'est un produit de décomposition oxydative des lipides insaturés composant les membranes (**Haj Mouhamed et al., 2003**). Les résultats de la présente étude indiquent que les teneurs en MDA, augmentent d'une façon hautement significative chez les rats males traités par une dose journalière de 7.5 mg/kg/j de la cyperméthrine et 1.28 mg/kg/j de la deltaméthrine séparément, et d'une façon significative chez les rats femelles traités par les deux insecticides. Cela pourrait être expliqué par le fait que la capacité de système anti-ROS devient insuffisante et la génération de l'anion hydroxyle qui attaque les phospholipides membranaires. Par ailleurs, nos résultats sont en accord avec ceux d'autres études qui ont mis en évidence une augmentation de la peroxydation lipidique après traitement par les insecticides (**Kehrer, 1993**). Dans l'autre côté, le traitement par la mixture des deux pyréthrinoides occasionne une augmentation hautement significative des taux de l'MDA tant chez les males que chez les femelles. Cela explique l'importance des dommages oxydatifs induits par le mélange et la mixture des pesticides.

L'organisme se protège en permanence contre la formation et l'agression des oxydants grâce à divers mécanismes de défense tant enzymatiques que non enzymatiques (**Sahnoun et al., 1996**). Parmi ces derniers, on retrouve principalement le glutathion réduit (GSH), il permet à l'organisme de se débarrasser des toxines et polluants indésirables, il récupère les radicaux libres résiduels résultant du métabolisme oxydatif et de la décomposition échappée par les enzymes antioxydantes. Le glutathion réduit (GSH) joue un rôle multifactoriel dans le mécanisme de défense antioxydante (**Sathishsekar et Subramanian, 2005**). C'est un piègeur direct des radicaux libres, et un Co substrat nécessaire pour l'activité du GST (**Dominguez et al., 1998 ; Ravi et al., 2004**). Par conséquent, les changements dans l'état redox du GSH peuvent être considérés comme un indicateur particulièrement sensible du stress oxydant (**Taleb-Senouci et al., 2009**). Dans la présente investigation, nous avons constaté une baisse significative des taux du GSH chez les rats expérimentaux par rapport aux rats témoins chez les deux sexes ; cela est dû peut être à une diminution de la synthèse du GSH ou une augmentation de sa dégradation au cours du stress oxydant causé par la deltaméthrine et la cyperméthrine. Ou pourrait être due à la présence de radicaux libres produits par ces insecticides. Ces effets ont déjà été observés par d'autres auteurs in vitro et in vivo (**Banerjee et al., 1999; Maran et al., 2009**). Une inhibition de l'activité enzymatique des enzymes tels que GR et GPx peut également induire la déplétion du réserve en GSH. Des résultats similaires ont été rapportés dans des études antérieures (**Sharma et al., 1991**).

La catalase est une enzyme ayant un rôle majeur de catalysant d'où son nom, la décomposition de H_2O_2 en H_2O et O_2 , C'est un antioxydant enzymatique largement distribué dans tous les tissus animaux (**Sathishsekar et Subramanian, 2005**). Ils peuvent, Par conséquent, atténuer les effets toxiques des ROS (**Mansour et Mossa, 2009**). L'induction de l'activité catalase peut être attribuée à l'élévation des teneurs en peroxyde d'hydrogène exogène qui représente le précurseur principal des radicaux hydroxyles, et qui est une forme très toxique et réactive des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (**Amira et al., 2011**). D'après nos résultats on constate une diminution significative de l'activité enzymatique de la catalase chez les rats expérimentaux par rapport aux groupes témoins chez les deux sexes. La réduction de l'activité de la catalase est peut être due à la production excessive d' H_2O_2 (**Teixeira et al., 2013**). Une augmentation surprenante de l'activité catalasique chez les mâles traités par l'association de DEL et CYP a été enregistrée. Cet effet peut être lié à un état de stress oxydant sévère provoqué par la combinaison des deux pyréthrinoides accompagné avec une production massive des radicaux hydroxyles. Les résultats de cette étude en terme de l'activité catalasique sont en corrélation avec l'étude portée sur l'effet de deux pyréthrinoides (deltamethrine et permethrine) sur la balance antioxydante enzymatique chez le rat *Wistar* (**Chargui et al., 2010**).

La GST est une enzyme antioxydant. Elle représente un ensemble d'enzymes capables de catalyser un grand nombre de réactions de détoxification relativement voisines, en utilisant le glutathion (GSH) comme cofacteur, de plus GST se lie avec plus ou moins d'affinités avec une gamme de composés hydrophiles et d'autres xénobiotiques comme pyréthrinoides (**Singh et al., 2009**). Les résultats de notre étude montrent que le taux de la glutathion S-transférase GST est significativement diminué chez les rats mâles et femelles, et non significative chez les femelles traitées par la cyperméthrine. L'inhibition de l'activité enzymatique de la GST a été prouvée par plusieurs recherches dans différents organes et tissus chez les animaux d'expérience après exposition aux insecticides. En outre, cette diminution pourrait de plus loin contribuer à la peroxydation lipidique augmentée, représentée par les niveaux accrus du MDA (**Zaidi et Banu, 2004**), et même elle reflète l'insuffisance des niveaux de GSH (**Garg et al., 2009**).

L'évaluation de l'effet des deux pesticides administrés en association a montré que les signes de toxicité sont beaucoup plus importants que ceux engendrés par les deux pyréthrinoides administrés séparément. Ce qui nous laisse supposer une éventuelle synergie entre les deux. Cette hypothèse ne peut, toutefois, être discutée faute de travaux qui ont été étudiés cette combinaison. En effet, si les effets des molécules séparées sont couramment étudiés, les risques associés aux mixtures des pesticides sont loin d'être estimés, par manque d'études évaluant les effets de combinaison de pesticides, malgré une multi-exposition constante de l'homme et des autres espèces vivantes à ces

substances (**Canistro et al., 2008**). Ainsi, les insecticides d'étude ont montré un comportement similaire chez les animaux des différents sexes (augmentation avec une toxicité plus au moins forte après traitement par la deltaméthrine indiquant son potentiel prooxydant relativement important).

Les pesticides, produits chimiques toxiques, posent un véritable problème de santé publique, à la fois pour les utilisateurs que pour les consommateurs des produits agricoles traités. Les pyréthriinoïdes représentent 30% des insecticides utilisés globalement en raison de leurs faibles effets toxiques aigus, leur métabolisme rapide ainsi que leur excrétion sous forme de métabolites non actifs dans l'urine des êtres vivants exposés.

L'exposition aux pyréthriinoïdes provoque des troubles pathologiques nerveux dus au déséquilibre du système antioxydant enzymatique associée à des productions massives des ROS, qui induit un stress oxydatif, considéré à son tour comme le mécanisme moléculaire clés intervenants dans la toxicité des polluants environnementaux à savoir les pesticides. .

La présente étude a été entreprise pour évaluer le potentiel neuro- prooxydant des pyréthriinoïdes (Deltaméthrine et Cyperméthrine séparés ou en association) chez les deux sexes des rats *Wistar*.

L'étude montre que l'exposition aux pyréthriinoïdes à différentes doses pendant 75 jours conduit à une perturbations des marqueurs du stress oxydatif ainsi par la deltamethrine que par la cypermethrine et montre également que les rats des deux sexes sont vulnérables à l'action des deux pyrethrinoides de type II. Une surproduction de l'MDA considéré comme indice particulier de la peroxydation lipidique, une diminution significative de réserve de GSH, et une perturbation des activités des enzymes antioxydantes (Catalase et Glutathionne-S-transférase) représentent les principales manifestations d'un état de stress oxydatif tant pour les males que pour les femelles.

Plusieurs alternatives aux pyréthriinoïdes existent. Afin de contrer la résistance croissante des insectes aux pyréthriinoïdes, nous devrions envisager d'autres solutions moins toxiques comme :

- les interventions physiques (chaleur ou gel).
- les actions biologiques.
- les pesticides à faible impact ou les extraits complexes de plantes naturelles.

A

- Ahmad, I., Shukla, S., Kumar, A., Singh, B. K., Patel, D. K., Pandey, H. P., & Singh, C. (2010).** Maneb and paraquat-induced modulation of toxicant responsive genes in the rat liver: comparison with polymorphonuclear leukocytes. *Chemico-biological interactions*, 188(3), 566-579.
- Amira, A., Sifi, K., & Soltani, N. (2011).** Measure of environmental stress biomarkers in *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba (Algeria). *European Journal of Experimental Biology*, 1(2), 7-16.
- Atkin, M. A., Gasper, A., Ullegaddi, R., & Powers, H. J. (2005).** Oxidative susceptibility of unfractionated serum or plasma: response to antioxidants in vitro and to antioxidant supplementation. *Clinical chemistry*, 51(11), 2138-2144.
- Aziz, M. H., Agrawal, A. K., Adhami, V. M., Shukla, Y., & Seth, P. K. (2001).** Neurodevelopmental consequences of gestational exposure (GD14–GD20) to low dose deltamethrin in rats. *Neuroscience letters*, 300(3), 161-165.

B

- Banerjee, B. D., Seth, V., Bhattacharya, A., Pasha, S. T., & Chakraborty, A. K. (1999).** Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers. *Toxicology letters*, 107(1), 33-47.
- Ben Ameer W, SouadTrabelsi, Yassine El Megdiche, Sihem Ben Hassine, Badreddine Barhoumi, Bèchir Hammami, Ethel Eljarrat, Damia Barceló, Mohamed Ridha Driss (2013).** Concentration of polychlorinated biphenyls and organ chlorine pesticides in mullet (*Mugilcephalus*) and sea bass (*Dicentrarchuslabrax*) from Bizerte Lagoon (Northern Tunisia). *Chemosphere*. 90(9): 2372-2380.
- Berger, M. M. (2006).** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant: état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(1), 48-53.
- Bourdon E. (2004).** Altération oxydative de protéines aux importantes physiologiques : l'Albumine- la protéine de régulation du fer (IRP₂), *le superoxyde dismutase, le protéosome*. 157p.
- Bradberry, S. M., Cage, S. A., Proudfoot, A. T., & Vale, J. A. (2005).** Poisoning due to pyrethroids. *Toxicological reviews*, 24(2), 93-106.
- Bradford, M. M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Brigelius-Flohé, R., Aumann, K. D., Blöcker, H., Gross, G., Kiess, M., Klöppel, K. D., ... & Usani, F. (1994).** Phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase. Genomic DNA, cDNA, and deduced amino acid sequence. *Journal of Biological Chemistry*, 269(10), 7342-7348.

Brion, A., Porcher, C. H., Nicolas, E., Mollereau, H., & Fontaine, M. (1978). *Vade-mecum du veterinaire de H. Mollereau, ch. porcher, E. Nicolas: formulaire veterinaire de pharmacologie, de therapeutique et d hygiene 14e ed. rev. et augm.* Vigot, 291-292.

Brooks, P. J. (1997). DNA damage, DNA repair, and alcohol toxicity—a review. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 21(6), 1073-1082.

C

Cadet, J., Bellon, S., Berger, M., Bourdat, A. G., Douki, T., Duarte, V., ... & Sauvaigo, S. (2002). Recent aspects of oxidative DNA damage: guanine lesions, measurement and substrate specificity of DNA repair glycosylases. *Biological chemistry*, 383(6), 933-943.

Canistro, D., Pozzetti, L., Sapone, A., Broccoli, M., Affatato, A. A., Stradiotti, A., & Paolini, M. (2008). Perturbation of murine liver cyp-superfamily of isoforms by different combinations of pesticide mixtures. *Food and chemical toxicology*, 46(1), 34-42.

Chargui, I., Falcioni, M. L., Cheikh, H. B., & Gabbianelli, R. (2010). Erythrocyte antioxidants enzymes imbalance following subcutaneous pyrethroid treatments in rats of different sex. *Environmental toxicology and pharmacology*, 30(2), 116-120.

Casida, J. E. (1980). Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. *Environmental health perspectives*, 34, 189.

Casida, J. E. (2009). Pest toxicology: the primary mechanisms of pesticide action. *Chemical research in toxicology*, 22(4), 609-619.

Casida, J. E., & Durkin, K. A. (2013). Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects. *Annual review of entomology*, 58, 99-117.

Catterall, W. A. (2000). From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels. *Neuron*, 26(1), 13-25.

Claiborne, A. L. (1985). Catalase activity. *CRC handbook of methods for oxygen radical research*, 1, 283-284.

Clayton DA, Doda JN (2001) Isolation of mitochondria from cells and tissues. In: Spector DL, Goldman R, Leinwand L (eds) *Cells: A Laboratory Manual*. Sci. Press, Beijing, pp 356–361

Couteux, A., & Lejeune, V. (2005). *Index phytosanitaire ACTA 2006*. Acta.

Couture, C., Fortin, M. C., Carrier, G., Dumas, P., Tremblay, C., & Bouchard, M. (2009). Assessment of exposure to pyrethroids and pyrethrins in a rural population of the Montérégie area, Quebec, Canada. *Journal of occupational and environmental hygiene*, 6(6), 341-352.

D

- Davies, T. G. E., Field, L. M., Usherwood, P. N. R., & Williamson, M. S. (2007).** DDT, pyrethrins, pyrethroids and insect sodium channels. *IUBMB life*, 59(3), 151-162.
- De Figueiredo Teixeira, R. L., Lopes, M. Q. P., Suffys, P. N., & Santos, A. R. (2013).** Tuberculosis pharmacogenetics: state of the art. In *Tuberculosis-Current Issues in Diagnosis and Management*. InTech.
- Delattre, J., Beaudoux, J. L., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant (aspects biologiques et pathologiques).
- Delattre, J., Théron, P., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005).** Espèces réactives de l'oxygène, antioxydants et vieillissement. *Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques*. Paris: Lavoisier, 281-309.
- DeLeve, L. D., & Kaplowitz, N. (1991).** Glutathione metabolism and its role in hepatotoxicity. *Pharmacology & therapeutics*, 52(3), 287-305.
- Delhaye, D. (2008).** *Effets indésirables et intoxications dus à l'utilisation de médicaments à base de perméthrine chez le chat. Etude épidémiologique* (Doctoral dissertation, Thesis, Docteur Vétérinaire, École Nationale Vétérinaire de Lyon, Lyon).
- Dhalla, N. S., Temsah, R. M., & Netticadan, T. (2000).** Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *Journal of hypertension*, 18(6), 655-673.
- Djellouli, F. (2013).** *Aspect qualitatif et quantitatif des lipoprotéines sériques chez les agriculteurs utilisant les pesticides dans la région de Tlemcen* (Doctoral dissertation).
- Domínguez, C., Ruiz, E., Gussinye, M., & Carrascosa, A. (1998).** Oxidative stress at onset and in early stages of type 1 diabetes in children and adolescents. *Diabetes care*, 21(10), 1736-1742.
- Dorman, D. C., & Beasley, V. R. (1991).** Neurotoxicology of pyrethrin and the pyrethroid insecticides. *Veterinary and human toxicology*, 33(3), 238-243.

E

- Ellman, G. L. (1959).** Tissue sulfhydryl groups. *Archives of biochemistry and biophysics*, 82(1), 70-77.
- Enayati, A. A., Ranson, H., & Hemingway, J. (2005).** Insect glutathione transferases and insecticide resistance. *Insect molecular biology*, 14(1), 3-8.
- Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., & Jürgens, G. (1992).** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radical Biology and Medicine*, 13(4), 341-390.

F

Fonnum, F., & Lock, E. A. (2004). The contributions of excitotoxicity, glutathione depletion and DNA repair in chemically induced injury to neurones: exemplified with toxic effects on cerebellar granule cells. *Journal of neurochemistry*, 88(3), 513-531.

Fréry, N., Guldner, L., Saoudi, A., Garnier, R., Zeghnoun, A., & Bidondo, M. (2013). Exposition de la population française aux substances chimiques de l'environnement. Tome 2- Polychlorobiphényles (PCB-NDL) et pesticides.

G

Gamet-Payraastre, L. (2011). Effets physiopathologiques des mélanges de pesticides. *Cahiers de nutrition et de diététique*, 46(2), 82-85.

Garg, D. P., Bansal, A. K., Malhotra, A., Kiran, R., & Dhawan, D. K. (2009). Methomyl induced hematological and biochemical alterations—protection by vitamin E. *Pesticide biochemistry and physiology*, 93(3), 127-132.

Gotoh, Y., Kawakami, M., Matsumoto, N., & Okada, Y. (1998). Permethrin emulsion ingestion: clinical manifestations and clearance of isomers. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 36(1-2), 57-61.

Gutteridge, J. M., & Halliwell, B. (1993). Invited review free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free radical research communications*, 19(3), 141-158.

H

Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry*, 249(22), 7130-7139.

Haj Mouhamed D, Ezzaher A, Neffati F, Douki W, Gaha L, Dalle-Donne I, Giustarini D, Milzano A, Colombo R (2003). Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *ClinChimActa*. 329: 23-38.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue Medicale de Liege*, 62(10), 628-38.

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (1990). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press, USA.

Hozawa, A., Jacobs, D. R., Steffes, M. W., Gross, M. D., Steffen, L. M., & Lee, D. H. (2007). Relationships of circulating carotenoid concentrations with several markers of inflammation, oxidative stress, and endothelial dysfunction: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA)/Young Adult Longitudinal Trends in Antioxidants (YALTA) study. *Clinical chemistry*, 53(3), 447-455.

Hunsen, S. (2001). Pyrethrins and pyrethroids. In small animal toxicology .*Peterson et Talcott. Saunders Company, Totonto.2001, 687-694*

I

INRS (Institut national de recherche et de sécurité). (1987). fiche de données de sécurité. *Deltaméthrine*. 1980. Paris, Roussel-Uclaf.

Iqbal, N., Samaha, F. F., Seshadri, P., Chicano, K. L., Daily, D. A., McGrory, J., ... & Stern, L. (2003). A low-carbohydrate as compared with a low-fat diet in severe obesity. *New England Journal of Medicine, 348(21), 2074-2081.*

J

Ji , LL., Fu, R., Mitchell, EW. (1992). Glutathione and antioxidant enzymes in skeletal muscle: effects of fiber type and exercise intensity. *Journal of Applied Physiology, 73(5), 1854-1859.*

Johansson, L. H., & Borg, L. H. (1988). A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. *Analytical biochemistry, 174(1), 331-336.*

K

Kadala, A., Charreton, M., Jakob, I., Cens, T., Rousset, M., Chahine, M., ... & Collet, C. (2014). Pyrethroids differentially alter voltage-gated sodium channels from the honeybee central olfactory neurons. *PloS one, 9(11), e112194.*

Kehrer, J. P. (1993). Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical reviews in toxicology, 23(1), 21-48.*

Khan, S. M. (2006). Protective effect of black tea extract on the levels of lipid peroxidation and antioxidant enzymes in liver of mice with pesticide-induced liver injury. *Cell biochemistry and function, 24(4), 327-332.*

Klimek, R. (1990). Cervical cancer as a natural phenomenon. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 36(3), 229-238.*

Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme, 20(4), 165-177.*

L

Lawrence, L. J., & Casida, J. E. (1983). Stereospecific action of pyrethroid insecticides on the gamma-aminobutyric acid receptor-ionophore complex. *Science, 221(4618), 1399-1401.*

- Lemoyne, M., Van Gossum, A., Kurian, R., Ostro, M., Axler, J., & Jeejeebhoy, K. N. (1987).** Breath pentane analysis as an index of lipid peroxidation: a functional test of vitamin E status. *The American journal of clinical nutrition*, 46(2), 267-272.
- Le Quesne, P. M., Maxwell, I. C., & Butterworth, S. T. (1981).** Transient facial sensory symptoms following exposure to synthetic pyrethroids: a clinical and electrophysiological assessment. *Neurotoxicology*, 2(1), 1-11.
- Lessenger, J. E. (1992).** Five office workers inadvertently exposed to cypermethrin. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues*, 35(4), 261-267.
- Limón-Pacheco, J., & Gonsebatt, M. E. (2009).** The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 674(1), 137-147.
- Lubos, E., Loscalzo, J., & Handy, D. E. (2011).** Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants & redox signaling*, 15(7), 1957-1997.

M

- Macàsek J.;Zeman M.,Vecka M.,Vàvrovà L., Kodydkovà J.,Tvrzickà E.& Iak A.,(2011).**Reaktivnik ys likové a dusikovésouceny v klinickémediciné. Casopislékaruceskych 150(8).
- Mansour, S. A., & Mossa, A. T. H. (2009).** Lipid peroxidation and oxidative stress in rat erythrocytes induced by chlorpyrifos and the protective effect of zinc. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 93(1), 34-39.
- Maran, E., Fernández, M., Barbieri, P., Font, G., & Ruiz, M. J. (2009).** Effects of four carbamate compounds on antioxidant parameters. *Ecotoxicology and environmental safety*, 72(3), 922-930.
- Muller, F. L., Lustgarten, M. S., Jang, Y., Richardson, A., & Van Remmen, H. (2007).** Trends in oxidative aging theories. *Free Radical Biology and Medicine*, 43(4), 477-503.

N

- Nagakannan, P., Shivasharan, B. D., Thippeswamy, B. S., & Veerapur, V. P. (2012).** Restoration of brain antioxidant status by hydroalcoholic extract of *Mimusops elengi* flowers in rats treated with monosodium glutamate. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 31(3).
- Nieradko-Iwanicka, B., & Borzęcki, A. (2016).** How Deltamethrin Produces Oxidative Stress in Liver and Kidney. *Polish Journal of Environmental Studies*, 25(3).

O

Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry*, 95(2), 351-358.

Oldham, K. M., & Bowen, P. E. (1998). Oxidative stress in critical care: is antioxidant supplementation beneficial?. *Journal of the American Dietetic Association*, 98(9), 1001-1008.

P

Packer, L., Tritschler, H. J., & Wessel, K. (1997). Neuroprotection by the metabolic antioxidant α -lipoic acid. *Free Radical Biology and Medicine*, 22(1), 359-378.

Parrón, T., Requena, M., Hernández, A. F., & Alarcón, R. (2011). Association between environmental exposure to pesticides and neurodegenerative diseases. *Toxicology and applied pharmacology*, 256(3), 379-385.

Patel, R. P., Moellering, D., Murphy-Ullrich, J., Jo, H., Beckman, J. S., & Darley-Usmar, V. M. (2000). Cell signaling by reactive nitrogen and oxygen species in atherosclerosis. *Free Radical Biology and Medicine*, 28(12), 1780-1794.

Pauluhn, J. (1999). Hazard identification and risk assessment of pyrethroids in the indoor environment. *Toxicology letters*, 107(1), 193-199.

Pelhate, M. (1985). L'axone géant de blatte, électrophysiologie-pharmacologie. *Application à l'étude du mode d'action d'insecticides Mode d'action et utilisation des insecticides: Insectes, insecticides, santé Publication A., Paris*, 185-189.

Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., & Defraigne, J. O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16(4), 233-239.

Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., & Defraigne, J. O. (1998). Espèces oxygénées activées en médecine humaine: une approche didactique. *Vaisseaux, Coeur, Poumons*, 3, 133-138.

Powers, S. K., & Lennon, S. L. (1999). Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proceedings of the Nutrition Society*, 58(04), 1025-1033.

R

Rammal, H., Bouayed, J., & Soulimani, R. (2010). A direct relationship between aggressive behavior in the resident/intruder test and cell oxidative status in adult male mice. *European journal of pharmacology*, 627(1), 173-176.

Ravi, K., Ramachandran, B., & Subramanian, S. (2004). Effect of *Eugenia jambolana* seed kernel on antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Life sciences*, 75(22), 2717-2731.

Ray, D. E. (1991). Pesticides derived from plants and other organisms. *Handbook of pesticide toxicology*, 2(13), 585-636.

Regnault, R. C. (2005). *Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement*. Londre-Paris-New-York: TEC & DOC, 1013 p.

Rodrigo, R. (2009). *Oxidative stress and antioxidants: their role in human disease*. Nova Biomedical Books.*

S

Sahnoun, Z., Jamoussi, K., & Zeghal, K. M. (1996). Free radicals and antioxidants: human physiology, pathology and therapeutic aspects. *Thérapie*, 52(4), 251-270.

Sathishsekar, D., & Subramanian, S. (2005). Antioxidant properties of Momordica Charantia (bitter gourd) seeds on Streptozotocin induced diabetic rats. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 14(2), 153.

Sharma, G., Nath, R., & Gill, K. D. (1991). Effect of ethanol on cadmium-induced lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat liver. *Biochemical pharmacology*, 42, S9-S16.

Schoenig, G. P. (1995). Mammalian toxicology of pyrethrum extract. *Pyrethrum Flowers Production, Chemistry, Toxicology, and Uses*. Oxford University Press, New York, 249-257.

Singh, A. K., Saxena, P. N., & Sharma, H. N. (2009). Stress induced by beta-cyfluthrin, a type-2 pyrethroid, on brain biochemistry of Albino rat (*Rattus norvegicus*). *Biol Med*, 1(2), 74-86.

Soderlund, D. M., Clark, J. M., Sheets, L. P., Mullin, L. S., Piccirillo, V. J., Sargent, D., ... & Weiner, M. L. (2002). Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology*, 171(1), 3-59.

T

Taleb-Senouci, D., Ghomari, H., Krouf, D., Bouderbala, S., Prost, J., Lacaille-Dubois, M. A., & Bouchenak, M. (2009). Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 16(6), 623-631.

Teixeira, E. I., Fischer, G., van Velthuisen, H., Walter, C., & Ewert, F. (2013). Global hot-spots of heat stress on agricultural crops due to climate change. *Agricultural and Forest Meteorology*, 170, 206-215.

Testud, F., & Grillet, J. P. (2007). Insecticides organophosphorés, carbamates, pyréthrinoïdes de synthèse et divers. *Encycl Méd Chir*, 16.

Thacker, J. R. (2002). *An introduction to arthropod pest control*. Cambridge University Press.

Tucker, S. B., & Flannigan, S. A. (1983). Cutaneous effects from occupational exposure to fenvalerate. *Archives of toxicology*, 54(3), 195-202.

V

Valentine, W. M. (1990). Pyrethrin and pyrethroid insecticides. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 20(2), 375-382.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.

Verma, R., Awasthi, K. K., Rajawat, N. K., Soni, I., & John, P. J. (2016). Curcumin modulates oxidative stress and genotoxicity induced by a type II fluorinated pyrethroid, beta-cyfluthrin. *Food and Chemical Toxicology*, 97, 168-176.

Vijverberg, H. P., van der Zalm, J. M., & van den Bercken, J. (1982). Similar mode of action of pyrethroids and DDT on sodium channel gating in myelinated nerves. *Nature*, 295(5850), 601-603.

W

WHO (World Health Organization).(2005). *Safety of Pyrethroids for Public Health Use*. Geneva. p 77.

Z

Zaidi, S. K. R., & Banu, N. (2004). Antioxidant potential of vitamins A, E and C in modulating oxidative stress in rat brain. *Clinica Chimica Acta*, 340(1), 229-233

Annexe I : Résultats statistiques

I.1. Evaluation du taux de MDA cytosolique

sexes \ Lots	Témoin	Deltaméthrine 1.28 mg/kg/j	Cyperméthrine 7.5 mg/kg/j	Mixture
males	20 ±7.2	71.34± 4.05	59.4± 1.2	77.24±3.54
femelles	22.98±2.88	63.28± 2.97	54.67± 5.45	70.45± 6.12

I.2. Evaluation du taux de GSH

sexes \ Lots	Témoin	Deltaméthrine 1.28 mg/kg/j	Cyperméthrine 7.5 mg/kg/j	Mixture
males	0.27±0.08	0.07 ±0.01	0.12 ±0.04	0.087 ±0.02
femelles	0.24±0.02	0.067 ±0.03	0.088 ±0.01	0.06 ±0.01

I.3. Evaluation de l'activité enzymatique catalasique

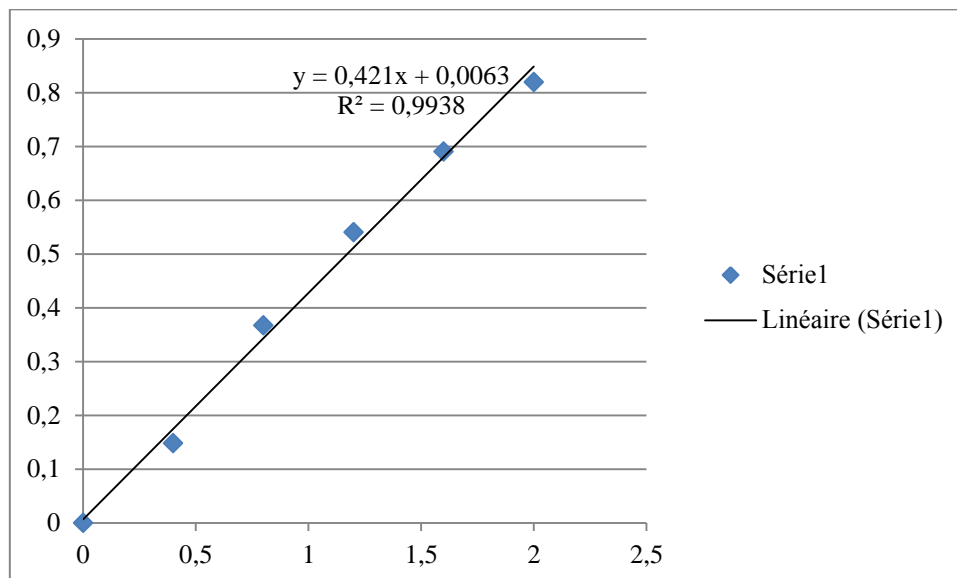
sexes \ Lots	Témoin	Deltaméthrine 1.28 mg/kg/j	Cyperméthrine 7.5 mg/kg/j	Mixture
males	13.82±2.43	7.15 ±1.46	5.56 ±2.02	29.03 ±4.21
femelles	15.76±3.12	10.54 ±2.5	9.21 ±2.68	8.5 ±2.41

I.4. Evaluation de l'activité enzymatique de GST

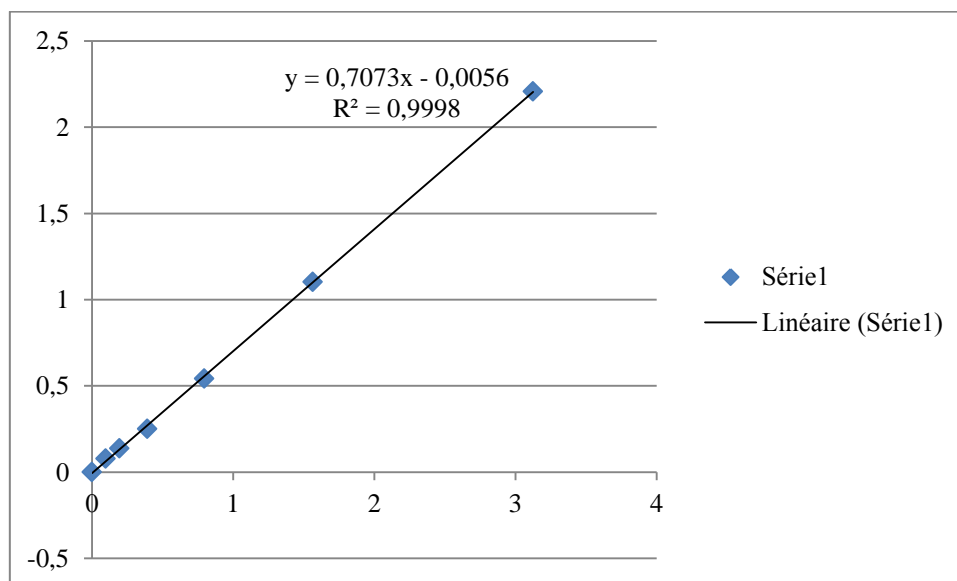
sexes \ Lots	Témoin	Deltaméthrine 1.28 mg/kg/j	Cyperméthrine 7.5 mg/kg/j	Mixture
males	0.076±0.02	0.04 ±0.01	0.048 ±0.02	0.03 ±0.01
femelles	0.078±0.03	0.048 ±0.015	0.06±0.03	0.038 ±0.01

Annexe II : Courbes d'étalonnages

II.1. Courbe d'étalonnage des protéines



II.2. Courbe d'étalonnage du GSH



Présenté par :
Boudefar Sabrina
Sayoud Amina

Membres des jurys :
Président : M^{me} Lemzeri H.
Examinateur : M^{me} Ouanas I
Encadreur : M^{me} Mekircha F

thème : Etude de la neurotoxicité liée au stress oxydant induit par les pyréthrinoides chez le rat wistar.

Résumé

Les insecticides de la famille des pyréthrinoides sont les plus couramment utilisés par les agriculteurs dans le traitement d'infestation parasitaires. Elles sont des molécules neurotoxiques. Dans cette étude on a évalué l'effet de l'exposition sub-chronique chez les rats *Wistar* femelles et males induits par les pyréthrinoides (CYP et DEL) sur certains marqueurs de stress oxydant au niveau du cerveau. On a étudié quatre lots des rats mâles et quatre lots femelles, exposés, par voie orale à des doses de 7.5mg/kg de poids corporel de CYP et de 1.28mg/kg de DELséparement et en mixture pendant dix semaines. Apré 75 jours de traitement les rats ont été sacrifiés pour prélever les échantillons. L'évaluation des paramètres de stress oxydatif montre une augmentation très significative du taux de MDA chez les males des lots traités par la DEL et la mixture, une diminution très significative du taux de GSH chez les femelles traitées par la CYP et la mixture. La DEL diminue significativement l'activité de la GST chez les deux sexes contre une diminution non significative par la CYP chez les femelles. La CYP diminue très significativement l'activité catalasique chez les males. La mixture inhibe très significativement l'activité de la GST chez les males et les femelles tandis qu'elle augmente significativement l'activité catalasique chez les males.

Mots clé : pyréthrinoides, cyperméthrine, deltaméthrine, le système nerveux, le stress oxydatif, males, femelles.

Abstract

Insecticides of the family pyrethroids are the most commonly used by farmers in the treatment of parasitic infestation. They are neurotoxic molecules. In this study, the effect of sub chronic exposure in female and male Wistar rats induced by pyrethroids (CYP and DEL) was evaluated on some oxidative stress markers in the brain. Four batches of male rats and four female batches were examined orally at doses of 7.5mg / kg body weight of CYP and 1.28mg / kg of LEDs sparing and in a mixture for ten weeks. After 75 days of treatment the rats were sacrificed to take the samples. The evaluation of the oxidative stress parameters showed a very significant increase in the MDA level in the males of the batches treated with the DEL and the mixture, a very significant reduction in the GSH level in the CYP and the mixture treated females. The LED significantly decreased the activity of GST in both sexes against a non-significant decrease in CYP in females. CYP significantly reduces catalase activity in males. The mixture significantly inhibits the activity of GST in males and females while it significantly increases catalase activity in males.

Key words: pyrethroids, cypermethrin, deltamethrin, nervous system, oxidative stress, males, females.

ملخص

المبيدات الحشرية من عائلة البريثرينويدات هي الأكثر استخداما من طرف المزارعين في علاج العدوى الطفيلية . وهي جزيئات سمية عصبية. في هذه الدراسة قمنا بتقييم تأثير التعرض شبه المزمن عند فئران ويسترن اناث و ذكور الناجم عن البريثرودات (سايبيرمثرين و دلتامثرين) على بعض علامات الاجهاد التأكسدي في الدماغ . تمت دراسة اربع مجموعات اناث واربع مجموعات ذكور من الفئران تعرضت عن طريق الفم لجرعة 7.5مغ/كغ من وزن الجسم من السايبيرمثرين و 1.28 مغ/كغ من الدلتامثرين بشكل منفصل و في الخليط خلال 10 اسابيع. بعد 75 يوم من العلاج تم قتل الفئران من اجل اخذ العينات. تقييم علامات الاجهاد التأكسدي تظهر زيادة كبيرة جدا في معدل ناتج اكسدة الليبيدات الغشائية في الذكور المعالجة بواسطة الدلتامثرين و الخليط وانخفاض كبير جدا في معدل الجلوتاثيون في الاناث المعالجة بالسايبيرمثرين . الدلتامثرين يقلل بشكل ملحوظ من نشاط الجلوتاثيون- س - ترانسفيراز في كلا الجنسين على عكس انخفاض غير معتبر عند الاناث المعالجة بالسايبيرمثرين . يقلل السايبيرمثرين بشكل كبير جدا في نشاط الكاتالاز عند الذكور. الخليط يمنع بشكل معتبر جدا في نشاط الجلوتاثيون- س - ترانسفيراز في الذكور والاناث في حين انه يزيد بشكل معتبر من نشاط الكاتالاز عند الذكور.

الكلمات المفتاحية

البريثرينويدات, سايبيرمثرين, دلتامثرين, الجهاز العصبي, الاجهاد التأكسدي, الذكور والاناث.