

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى- جيجل

Université Mohammed-Seddik Benyahia-Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire



كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

Mémoire de fin d'étude

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

Option : Biochimie et Santé

Thème

Effets neurotoxiques des pyréthrinoïdes sur les animaux de laboratoire

Membre de jury :

Présidente : M^{me} Mezahem T

Examinatrice : M^{me} Boutennoun H

Encadreur : Dr Kebieche M

Co-encadreur : M^{me} Beghoule A

Présenté par :

M^{elle} : Boulssane wahiba.

M^{elle} : Bouazizi Nour el Houda.

Année universitaire 2016-2017

N°d'ordre :

Remerciements

Ce mémoire vient finaliser 5 ans de travail. Il marque un terme à cette expérience professionnelle mais aussi personnelle qui n'aurait pas été réalisée sans le savoir et le soutien de nombreuses personnes. Nous tenons ainsi à remercier en quelques lignes tous ceux qui, de près ou de loin ont contribué à ce travail, en espérant n'oublier personne et il faut trouver les mots justes. Je vais essayer de faire de mon mieux.

*Nous remercions tout d'abord Dieu **Allah**, le tout puissant et le maître de l'univers qui nous a donné le nécessaire, la forte volonté et la patience afin d'accomplir ce travail et qui nous a toujours guidé vers le bon chemin.*

*Nos sincères remerciements vont particulièrement à : Monsieur **Dr. KEBIECHE Mohamed** pour les conseils judicieux et constants qu'il m'a prodigués tout au long de ce travail, pour sa disponibilité et son indulgence qui m'ont permis de mener à bien cette étude, qu'il trouve ici l'expression de mes plus profonds respects et toutes mes gratitude.*

*Nous exprimons nos remerciements à Madame **Beghoul Afaf** notre Co-encadreur, pour l'encadrement continu qu'elle nous a assuré lors de la réalisation de cette étude.*

*Nous exprimons également nos remerciements à madame **Boutennoun** qui a accepté d'examiner ce travail et consacré de son temps pour son évaluation.*

*Nous exprimons également nos remerciements à madame **Mezahem** qui a accepté de présider ce travail et consacré de son temps pour son évaluation.*

Nous remercions tout particulièrement nos collègues de filière biochimie et santé.

Merci à tous

✍ Nour el houda

✍ Wahiba



Dédicace

On tient à remercier en premier lieu **ALLAH** le tout puissant pour toute la volonté et le courage qu'il on a donné pour l'achèvement de cette mémoire, il a été et sera toujours à côté de nous pour réussir à terminer n'importe quel travail.

On dédie ce travail à nos chers **papas**, c'est pour vous, et grâce à vous que nous a fait ce parcours

A nos très chères **mères**, sans elles rien n'aurais pu être fait qui nous a tout donné sans rien en retour et qui nous a encouragé et soutenu dans mes moments les plus difficiles, pour ses précieux conseils durant tout mon cycle universitaire.

"Merci mama"

A notre chère sœur **Nassima, Saliha, Ghada et Nadjla**, à mon chère frère **Kamel, Omar et Ahmed** qui ont toujours été présents pour moi et qui m'ont toujours soutenu et encouragée psychologiquement.

A toute ma grande famille sans exception surtout Tonton **Djamel**, ma tante **Fatiha et Khadija** et mes cousines.

A tous mes chères meilleures amies en qui j'ai toujours trouvé le soutien et le réconfort

Mes remerciements s'adressent également aux autres personnes que je n'ai pas citées, merci pour votre gentillesse et votre aimabilité.

WAHIBA & HOUDA

Liste de figures	I
Liste des tableaux	II
Liste des abréviations	III
Introduction	1

Partie I : synthèse bibliographique

Chapitre I : Les pyréthrinoïdes

1. Généralités sur les insecticides.....	3
2. Les pyréthrinoïdes.....	4
2.1. Définition.....	4
2.2. Classification et structure chimique.....	4
3. Deltaméthrine (DLT).....	5
3.1. Définition.....	5
3.2. Toxicocinétique, métabolisme et dynamique de la deltaméthrine.....	6
3.3. Actions de la deltaméthrine.....	12
3.3.1. Sur les canaux ioniques.....	12
3.3.2. Sur les neuromédiateurs.....	13
3.3.3. Action apoptotique.....	14
3.3.4. L'Action sur les tatux Redox.....	17
4. Bifenthrine.....	17
4.1. Définition.....	17
4.2. Toxicocinétique, métabolisme et dynamique du bifenthrine.....	17
4.3.Action de bifenthrine.....	20
4.3.1. Sur les canaux sodiques.....	20
4.3.2. Action sur l'acétylcholinestérase.....	21

Chapitre II : système nerveux, neurotoxicité, pharmacologie

1. Organisation et physiologie générale du système nerveux.....	22
1.1. Anatomie générale du SN.....	22
1.2. Physiologie du SN.....	22

1.3. La transmission chimique.....	23
1.4. Anatomie régionale du SNC.....	24
1.4.1. Hippocampe	24
1.4.2. Striatum.....	25
2. Pathologie du S	26
2.1. Alzheimer	26
2.2. Parkinson	28
3. Pharmacologie (quercétine).....	30
3.1. Quercétine: Absorption, Métabolisme.....	31
3.2. Effets neuroprotecteurs de quercétine.....	31

Partie II : Etude expérimentale

I. Matériel et méthodes.....33

1. Matériel

1.1. les animaux et conditions d'hébergement.....	33
1.2. Choix et préparation des doses.....	33
1.3. La préparation des solutions.....	33
1.4. Répartition et traitement des animaux.....	33

2. Méthodes

2.1. Teste de reconnaissance d'objet.....	34
2.1.1. principe.....	35
2.1.2. procédure.....	35
2.2. Sacrifice des animaux et prélèvements du cerveau.....	36
2.3. Evaluation du stress oxydatif mitochondrial et cytosolique.....	36
2.3.1. Extraction des mitochondries du cerveau.....	36
2.3.2. Dosage des protéines par la méthode de Bradford (1976).....	36
2.3.2.1. Principe.....	36
2.3.2.2. Déroulement de dosage.....	37
2.3.3. Mesure du gonflement mitochondriale "mitochondrial-swelling"	37

2.3.4. Mesure de l'activité enzymatique de la glutathion S-Transférase (GST).....	37
2.3.4.1. Principe.....	37
2.3.4.2. procédure.....	37
2.3.5. Mesure de l'activité enzymatique de la catalase(CAT)	38
2.3.5.1. Principe.....	38
2.3.5.2 Procédure.....	38
2.3.6. Dosage du glutathion (GSH)	39
2.3.6.1. Principe	39
2.3.6.2. Procédure.....	39
2.3.7. Dosage du Malondialdéhyde (MDA).....	40
2.3.7.1. Principe	40
2.3.7.2. Procédure.....	40
II. Résultats et discussion des paramètres de stress oxydatif.....	41
1. teste reconnaissance d'objet	41
2. gonflement mitochondriale.....	43
3. variation de l'activité de GST cytosolique.....	46
4. variation de l'activité de CAT cytosolique.....	49
5. variation de l'activité de GSH cytosolique.....	52
6. variation de MDA cytosolique.....	54
Conclusion.....	57
Référence bibliographiques.....	
Annexe.....	

Liste des figures

<i>Numéro de figure</i>	<i>page</i>
Figure 01 : Profils de concentration plasmatique de DLT en du temps plasmatique.....	7
Des rats S-D mâles administrés à raison de 2 mg DLT / kg po dans GF ou iv	7
Figure 02 : Cinétique de l'hydrolyse de deltaméthrine par carboxyle estérase CE-1 humaine et Hydrolase A chez le rat.....	8
Figure 03 : Métabolisme hydrolytique de la deltaméthrine.....	9
Figure 04 : Oxydation de DLT par le CYP 450 chez le rat.....	10
Figure 05 : Elimination de DLT chez le rat dans le microsome hépatique en absence/présence de NADPH.....	11
Figure 06 : Elimination de DLT chez l'homme dans le microsome hépatique en absence/présence de NADPH sans NDPH.....	12
Figure 07 : Sites de liaison possibles de la DLT avec AchE.....	13
Figure 08 : Action de la DLT sur le p53 induisant l'apoptose.....	15
Figure 09 : La voie de signalisation de stress par DLT.....	16
Figure 10 : La relation entre les concentrations cérébrales et l'activité motrice à 4 et 7 h après l'administration orale de bifenthrine chez les rats mâles.....	19
Figure 11 : Modification dépendant de la concentration des courants de sodium dans les neurones corticaux cérébraux par la bifenthrine.....	21
Figure 12 : Organisation générale du cerveau et des organes.....	23
Figure 13 : La transmission des signaux nerveux	24
Figure 14 : Représentation du lobe temporal médian et de l'hippocampe chez l'Homme.....	24
Figure 15 : La formation de l'hippocampe.....	25
Figure 16 : Les deux voies de clivage de l'APP.....	27
Figure 17 : Biosynthèse et catabolisme de la dopamine.....	29

Figure 18 : Test de reconnaissance d'objet.....	34
Figure 19 : Réaction de GSH avec DTNB	39
Figure 20 : Variation de RI chez les rats traités par BF associé ou non avec la quercétine.....	41
Figure 21 : Variation de DI chez les rats traités par BF associe ou non avec la Quer.....	41
Figure 22 : Variation de RI chez les rats traités par Mixt associe ou non avec la Quer.....	42
Figure 23 : Variation de DI chez les rats traités par mixt associe ou non avec la Quer.....	42
Figure 24 : Effets de BF associée ou non à la quercétine dans différentes région du cerveau.....	43
Figure 25 : Effets de la DLT associée ou non à la quercétine dans différentes région du cerveau.....	44
Figure 26 : Effets de la Mixt associée ou non à la quercétine dans différentes région du cerveau.....	44
Figure 27 : Effets de la DLT associée ou non à la quercétine dans différentes région du cerveau.....	47
Figure 28 : Effets de la BF associée ou non à la quercétine dans les différentes régions du cerveau.....	47
Figure 29 : Effets de la Mixt associée ou non à la Quer dans différentes région du cerveau.....	48
Figure 30 : Effets de la BF associée ou non à la quercétine dans différentes région du cerveau.....	50
Figure 31 : Effets de DLT associée ou non à la quercétine dans différentes région du cerveau....	50
Figure 32 : Effets de Mixt associée ou non à la quercétine dans différentes région du cerveau....	51
Figure 33 : Effets de BF associée ou non à la Quer dans différentes région du cerveau.....	52
Figure 34 : Effets de DLT associée ou non à la Quer dans différentes région du cerveau.....	53
Figure 35 : Effets de Mixt associée ou non à la Quer dans différentes région du cerveau.....	53
Figure 36 . Effets de BF associée ou non à la Quer dans différentes région du cerveau.....	54
Figure 37 : Effets de DLT associée ou non à la Quer dans différentes région du cerveau.....	55
Figure 38 : Effets de Mixt associée ou non à la Quer dans différentes région du cerveau.....	55

List des tableaux

<i>Numéro de tableau</i>	<i>page</i>
Tableau 01. Structure chimique de certains pérythrinoïdes du type I et type II.....	5
Tableau 02. Différents paramètres cinétiques après une administration po et iv à la dose de 2mg/kg chez le rat S-D.....	6
Tableau 03. Les valeurs des paramètres cinétiques de la réaction d'hydrolyse de DLT par les différentes hydrolases humaines et animales.....	11
Tableau 04. La DL50 et le DJA de DLT et de la BF.....	33
Tableau 05. Répartition et traitement des animaux.....	34

Liste des abréviations

AchE :	Acétylcholinestérase
AD :	Aldéhyde déshydrogénase
ADN :	Acide désoxyribonucléique
Apaf-1:	Apoptotique protease activating factor-1
APP :	Amyloid precursor protéine
ARNm :	Acide ribonucléique messenger
ATP :	Adénine triphosphate
AUC :	Aire sous courbe
Aβ:	Des plaques amyloïdes
BBC :	Bleu brillant de Coomassie
BF:	Bifenthrine
BSA:	Bovin Serum Albumin
CA :	Champs amoniens
CAT :	Catalase
CDNB :	Chlorodinitrobenzène
CE :	Les carboxyles estérases
CL :	La clairance
COMT :	Catéchol - O - Méthyl – Transférase,
CYP450 :	Les cytochromes P450
DAG :	Diacylglycérol
DAT :	Dopamine
DD :	DOPA décarboxylase,
DDT :	Dichlorodiphényltrichloroéthane

DG :	le gyrus dentatus
DI :	Indice de discrimination
DO :	Densité Optique
DOPAC :	Acide 3,4-dihydroxyphénylacétique
DTNB :	5-5'dithiobis2-nitrobenzoïque
F :	La biodisponibilité
GABA :	Gamma-aminobutyrique acide
GF :	Glycérol formel
GI :	Gastrique intestinale
GR :	Globule rouge
GSH :	Glutathion réduit
GST :	Glutathion – S - transférase
HAP :	Hydrocarbures Aromatiques Polycyclique
HVA :	Acide homovanillique
IP3 :	L'inositoltrisphosphate
Iv :	Voie intravineuse
K_{cat} :	K catalytique
k_m :	Constant Michaelis
MAO :	Monoamine oxydase,
MDA :	Malondialdéhyde
NADP :	Le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NFT :	Les enchevêtrements neurofibrillaires
OCs :	Organochlorés

p53 :	Phosphoprotein of 53 KDa
PD :	La maladie de parkinson
P-gp :	La glycoprotéine P
PIP2 :	Le phosphatidylinositol 4,5 Bisphosphate
PLC :	Phospholipase C
Po :	par voie orale
PTP :	Bermeability transition pore
PTP :	Permeability Transition Pore
RE :	Reticulum endoplasmique
RI :	Indice de reconnaissance
S-D :	Sprague–Dawley
SN :	Système nerveux
SN :	La substantianigra
SNC :	Système nerveux central
SNpc :	La substantianigra pars compacta
SULT :	Sulfotransférase
TBA:	Thiobarbituric Acid
TBARS:	Thiobarbituric Acid reactive substance
TCA:	Acide Trichloroacétique
TF :	Temps passé sur l'objet F (familier)
TH:	Tyrosine hydroxylase
TN :	Temps passé sur l'objet N (nouveau)
TS:	Sucrose , Tris

TSE: Sucrose, Tris, EDTA

UGT: Uridine 5-diphosphoglucuronosyltransferase

UI : Unité internationale

Vd : Volume de distribution

Introduction

A l'ère de la société de consommation et la demande incessante de la population mondiale en produits alimentaires, il est plus qu'indispensable de miser sur les grandes cultures et l'agriculture massive afin de répondre à cette exigence contemporaine de l'humanité. Cette demande ne peut être satisfaite avec les méthodes classiques de production agricole, ce qui a poussé les agriculteurs à opter pour l'intensification de la production des produits agricoles en assurant une large prise en charge phytosanitaire des cultures et l'utilisation intensive des pesticides afin d'augmenter la biomasse végétative et diminuer les vecteurs des différentes maladies (Refaie *et al.*, 2014).

Malheureusement, ces substances constituent un danger de toxicité permanent pour la santé de la population, ce qui a suscité une attention particulière en toxicologie environnementale. En effet, ces polluants sont responsables de sérieux problèmes environnementaux en raison de leur large utilisation par les agriculteurs, leur persistance et leur bioaccumulation le long de la chaîne trophique. De plus, plusieurs études ont montré l'implication de ces xénobiotiques dans la survenue de diverses pathologies (Vendelac et Bacon, 1999). L'exposition aux pesticides peut se produire directement lors de leur production ou de leur utilisation professionnelle et que les personnes intoxiquées sont prises en charges par la médecine professionnelle ou les centres de détoxification spécialisés. Or, l'exposition de la population générale à ces toxiques, à des faibles doses via les matrices biologiques, notamment alimentaires, reste sans étude d'impact sur l'organisme vivant, ce qui rend opaque la relation entre ces polluants et l'étiologie de certaines pathologies telles que les maladies métaboliques, les maladies neurodégénérative, les atteintes de la fonction de la reproduction, les altérations neuro-développementales et les cancers (Baldi *et al.*, 2012).

Parmi les pesticides les plus utilisés en Algérie, on a les pyréthrinoïdes de synthèse. Ces produits sont de plus en plus utilisés, puisque on enregistre que 30% des insecticides utilisés dans le monde sont des pyréthrinoïdes qui deviennent le choix préféré dans plusieurs domaines agricoles, domestique et vétérinaires, de par leur potentiel insecticide élevé et leur tendance à se biodégrader plus rapidement dans l'environnement (Iwanika et Borzечи, 2014). Comme tous les pesticides, ces produits chimiques ont une toxicité plus élevée grâce à leur nature lipophile cumulant souvent dans les tissus adipeux. Ils sont aussi capables de produire des espèces réactives de l'oxygène (ROS) pendant leur métabolisation, en altérant ainsi l'intégrité et la fonction de la cellule et ses organelles, particulièrement la mitochondrie qui produit plus de ROS susceptible d'engendrer un déséquilibre dans le statut redox causant par la suite des différentes altérations mitochondriales allant d'une perturbation respiratoire jusqu'à l'apoptose ou la nécrose (Ambolet-camoit *et al.*, 2012 ; Hossin *et al.*, 2014).

Dans cette présente étude, notre travail est axé sur l'évaluation des effets neurotoxiques de Deltaméthrine (Decis[®]) et Bifenthrine (Bifendus[®]) administrés en chronique (3 mois) à des doses respectives de 3.72 mg/kg et 2.6 mg/kg, seuls et en mixture chez le rat femelle *Wistar Albinos*. Par ailleurs, une attention est accordée à l'utilisation d'un composé phénolique, en l'occurrence la quercétine, qui possède un potentiel antioxydant et cytoprotecteur afin de prévenir les effets délétères de ces pyréthrinoïdes.

I : Etude bibliographique

1. Généralités sur les insecticides

Les insecticides sont des substances toxiques utilisées pour contrôler ou tuer les insectes nuisibles affectant les humains directement en transmettant des maladies ou indirectement en attaquant les plantes cultivées dans les fermes ou pendant le stockage des récoltes, ce qui affecte la sécurité alimentaire (Abreu *et al.*, 2016 ; Trdan *et al.*, 2013). Par conséquent, ces produits pouvant entraîner l'augmentation de la productivité agricole mondiale (Yun *et al.*, 2016). Cependant, l'exposition accrue à ces substances est susceptible de provoquer des effets toxiques hors cible y compris la population humaine (Yun *et al.*, 2016 ; Abreu *et al.*, 2016), en agissant notamment sur le système nerveux (Abreu *et al.*, 2016).

L'apparition des insecticides est plus ou récente car ils étaient moins connus qu'après la première guerre mondiale. On note dans ce sens qu'il y avait que certaines substances inorganiques telles que les extraits des plantes (tabac, roténone...), les carbolines ou les huiles minérales que l'on considérait comme étant des produits à caractère insecticide (Trdan, 2013), par contre leur synthèse organique et chimique a été développée vers la fin de la seconde guerre mondiale (Trdan, 2013).

Il existe une variété de classes d'insecticides : Les organochlorés (OCs) représentés en tête par DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane). Ils sont considérés comme la première classe grâce à leur efficacité dont elle a été détectée par le chimiste suisse Paul Müller 60 ans plus tard après leur première identification par le chimiste Autrichien Othmar Zeidler en 1874 (Abreu *et al.*, 2016). Cette classe d'insecticides est nuisible pour l'homme quand il la contracte via la contamination des matrices alimentaires et lui provoquant des altérations au niveau du cerveau, organe ciblé grâce à leur lipophilie (Da-Silva *et al.*, 2016), parallèlement à leur accumulation dans les adipocytes des tissus nerveux à cause de cette même propriété (Abreu *et al.*, 2016) ainsi que l'intervention avec les canaux sodiques d'où l'inhibition de l'influx du sodium (Costa *et al.*, 2015).

La seconde classe des insecticides est les organophosphorés (OC) comme le malathion et le parathion qui sont apparus après l'interdiction des OC. Les organophosphorés sont des anticholinestérasiques car ils inhibent irréversiblement l'acétylcholinestérase, cet événement entraîne l'accumulation de l'acétylcholine dont les signes périphériques sont la salivation accrue et des effets sur le système nerveux central tels que les étourdissements, les confusions mentales, les convulsions et la mort (Abreu *et al.*, 2016).

2. Les pyréthrinoïdes

2.1. Définition

Les pyréthrinoïdes sont des analogues synthétiques structurellement similaires aux six esters naturels de pyréthrine présents dans les têtes des fleurs appartenant au genre (*Chrysanthemum*) (Abreu *et al.*, 2016). Cette substance est dégradée rapidement dans l'environnement, c'est pour cela qu'elle n'a jamais été utilisée pour la protection des végétaux à grande échelle dans l'agriculture (Cycon *et al.*, 2016).

Les pyréthrinoïdes représentent une classe d'insecticide, la plus fréquemment utilisée dans de différents pays depuis des décennies. Et plus d'un tiers d'insecticides actuellement commercialisés dans le monde, car leur toxicité est relativement faible pour les mammifères à l'opposé des insecticides organophosphorés (Lei *et al.*, 2017). Ces insecticides sont largement appliqués dans la lutte contre les ravageurs agricoles, dans l'utilisation ménagère et également employés pour contrôler les attaques d'insectes contre les animaux (Abreu *et al.*, 2016).

2.2. Classification et structure chimique

Des modifications de la structure moléculaire des pyréthrines ont permis la synthèse de deux catégories de pyréthrinoïdes se distinguant par leur mode d'action toxique (Huizhen et Jing You, 2016) à savoir :

- Type I : sont des composants dépourvus du groupe cyano (Shen *et al.*, 2017 ; Abreu *et al.*, 2016) comme bifenthrine (58%), perméthrine (31%) et la cyfluthrine (14%) (Li *et al.*, 2017).
- Type II : sont des composants contenant les groupes cyano comme la deltaméthrine et la cyperméthrine (Shen *et al.*, 2017 ; Abreu *et al.*, 2016).

Les structures chimiques de quelques exemples de ces deux types de pyréthrinoïdes sont illustrées dans le tableau 1. Parmi les différents pyréthrinoïdes les plus répandus sont les insecticides de synthèse comme la deltaméthrine et la bifenthrine.

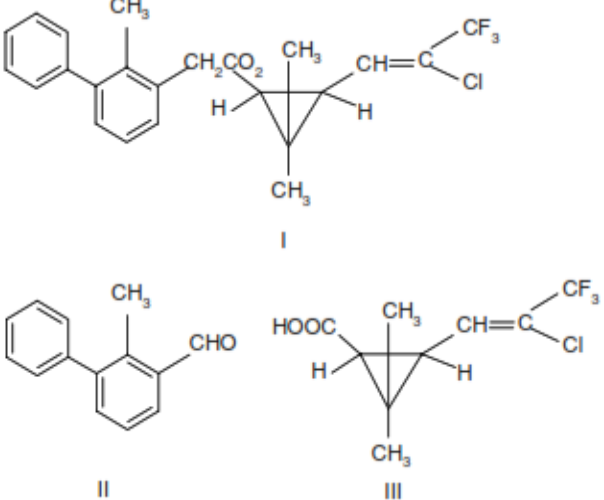
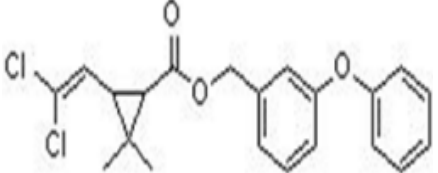
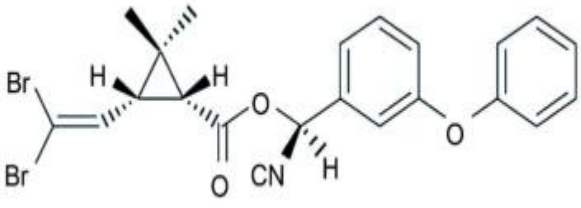
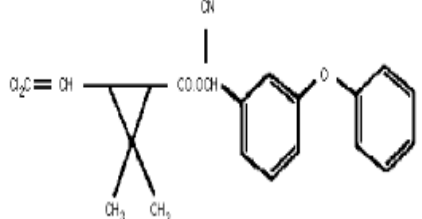
Classe	Structure chimique	
Type I	 <p data-bbox="323 896 885 929">Bifenthrine (I) et leurs métabolites (II) (III)</p>	 <p data-bbox="1010 996 1165 1030">perméthrine</p>
Type II	 <p data-bbox="323 1601 494 1635">deltaméthrine</p>	 <p data-bbox="1098 1601 1292 1635">cyperméthrine.</p>

Tableau 1. Structure chimique de certains pyréthrinoides de type I et de type II (Mukherjee *et al.*, 2010 ; Pan *et al.*, 2014 ; Rehman *et al.*, 2014)

3. Deltaméthrine

3.1. Définition

La deltaméthrine [cyano-3-phénoxybenzyl- (1R) -cis-3- (2,2-dibromovinyl) -2,2-diméthylcyclopropane carboxylate] (Ding and Catherine, 2004) représente un des pyréthrinoïdes de type II, et le métabolite primaire d'un autre pyréthrinoïdes, c'est la tralométhrine (Shen *et al.*, 2017). Il est utilisé pour lutter contre les ravageurs à l'intérieur des maisons et dans les champs de culture (Arora *et al.*, 2016).

3.2. Toxicocinétique, métabolisme et dynamique de la deltaméthrine

3.2.1. Voies de contamination

L'exposition professionnelle humaine aux pesticides pyréthrinoïdes peut se produire sur le lieu de travail, lors des applications dans les champs de cultures et dans les ménages. La contamination dans ce cas est prend plusieurs voies : la voie respiratoire par inhalation quand Il est chargé de pesticide, par voie dermique quand le pesticide est versé ou retombé sur les yeux et la peau, absorption cutanée (Ye *et al.*, 2016 ; Ye *et al.*, 2013 ; Kim *et al.*, 2017). Cependant, la consommation d'aliments (des fruits, des légumes et des céréales...ect.) contenant des résidus de pesticides est une source reconnue d'exposition non professionnelle aux pesticides dans la population générale (Ye *et al.*, 2016).

3.2.2. Absorption et distribution plasmatique et tissulaire

Dans des études antérieures, un groupe de rats Sprague–Dawley (S-D) mâles ont été administrés par voie orale avec 0,2, 2 et 10 mg DLT / kg dissous dans du glycérol formel (GF). Un autre groupe a reçu 2 mg / kg par voie intra veineuse (iv). Les résultats montrent que la DLT est très rapidement distribuée par voie systémique suite à une injection (iv) et son élimination systémique est relativement lente ($t_{1/2}$ de 13,3 h), et la DLT administrée par voie orale dans GF a été rapidement mais incomplètement absorbé par le tractus gastro-intestinal où ($T_{max} = 1$ h). La biodisponibilité (F) de DLT n'était que de 18%. Le volume de distribution (Vd), $t_{1/2}$ et la clairance (CL) n'ont pas varié de façon significative avec la voie d'administration (Tableau2) (figure 1) (Kim *et al.*, 2007).

TK parameters	Dose (2 mg/kg)	
	Oral	iv
C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	0.53 ± 0.14^a	—
T_{max} (h)	1.0	—
AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{ml}^{-1}$)	2.7	15.0
F	0.18	—
$t_{1/2}$ (h)	15.8	13.3
Vd (l/kg)	3.05	2.56
CL (l/h)	0.06	0.06

^aValue is mean \pm SE ($n = 4$ or 5).

Tableau 2. Différents paramètres cinétiques après une administration po et iv à la dose de 2mg/kg chez le rat S-D (Kim *et al.*, 2007).

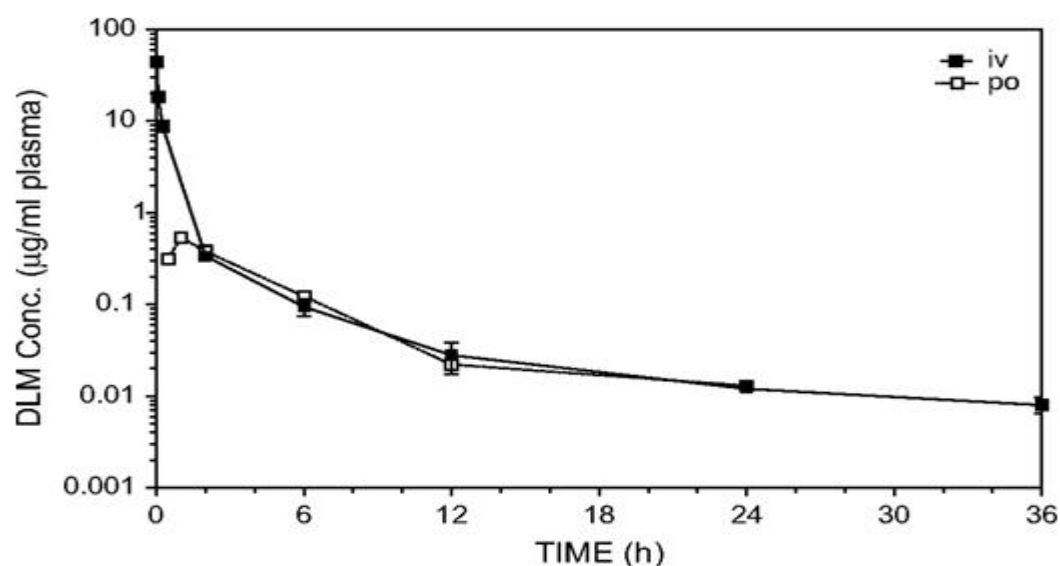


Figure 01. Profils de concentration plasmatique de DLT en du temps plasmatique des rats S-D mâles administrés à raison de 2 mg DLT / kg po dans GF ou iv (Kim *et al.*, 2007).

La base de la faible biodisponibilité orale n'est pas connue. Dans des expériences récentes, des résultats ont montré que 40% d'une mono dose orale de 10 mg DLT / kg a été éliminée dans les excréments de rats (Anadón *et al.*, 1996). La DLT n'a pas été détectée dans les selles suite à son injection iv, ce qui suggère que le produit chimique n'entre pas dans la lumière GI par excrétion biliaire ou par diffusion passive du sang. La glycoprotéine P (P-gp) est située sur la membrane frontière de la brosse GI (Zhang and Benet, 2001), et peut diminuer l'absorption DLT chez le rat en agissant comme un transporteur efflux (Kim *et al.*, 2007).

Une faible DLT a été trouvée associée au globule rouge (GR), les mesures ont révélé que presque 83% de DLT était présent dans le plasma après 2, 6 et 12 h après que les rats aient reçu 10 mg DLM / kg po. Il n'a pas été établi si DLT se lie aux protéines plasmatiques, même si certains auteurs pensent que les biphenyle halogénés se répartissent dans des régions hydrophobes des protéines plasmatiques et donc la DLT se lie à des sites spécifiques de ces composés (Kim *et al.*, 2007). Ces mêmes auteurs, admettent que les lipoprotéines, de faible et haute densité, sont les principaux accepteurs plasmatiques des HAP (Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques), après leur hyperpolarisation et des aliphatiques halogénés ce qui suggère que la DLT pourrait subir la même polarisation étant donné qu'elle a une structure benzénique apolaire. Kim et ses collaborateurs (2007) ont présenté des résultats montrant seulement 0,29% du poids corporel total de rats recevant 10 mg / kg était présent dans l'ensemble du cerveau. La grande composition phospholipidique du cerveau peut être un facteur de partage du DLT hautement lipophile. DLT sort facilement du sang et entre dans les autres organes et tissus étudiés, mais peut être limité par la barrière hémato-encéphalique. Des quantités importantes de P-gp dans le cerveau, du sang et du cervelet peuvent servir de transporteurs efficaces d'efflux. Selon toujours Kim et collaborateurs (2007), les valeurs globales de DLT C max et AUC du cerveau soient inférieures aux valeurs du sang / plasma ou des tissus maigres. Par ailleurs, Anadón et collaborateurs (1996) ont décrit des concentrations de DLT nettement plus élevées dans cinq des six régions du cerveau que dans le plasma de rats administrés par voie orale. Cependant, les travaux de Kim et collaborateurs ont montré que les niveaux de DLT du cerveau étaient bien inférieurs aux niveaux sanguins. Les raisons de cette divergence ne sont pas claires, bien que les valeurs de C max sanguin à 10 mg / kg soient ~ 10 fois supérieures à celles d'Anadón et ses collaborateurs (1996) à la dose de 26 mg / kg (Kim *et al.*, 2007).

3.2.3. Métabolisme et élimination hépatique de la deltaméthrine

La deltaméthrine est métabolisée chez les mammifères aux niveaux des microsomes hépatiques par deux voies (Nieradko et Borzecki, 2015 ; Ding *et al.*, 2004), la voie d'hydrolyse et la voie oxydative. La voie d'hydrolyse est la voie prédominante du métabolisme hépatique *in vitro* de la DLT chez l'homme, tandis que le métabolisme oxydatif hépatique est la voie prédominante chez les animaux (figure 2) (Godin *et al.*, 2007).

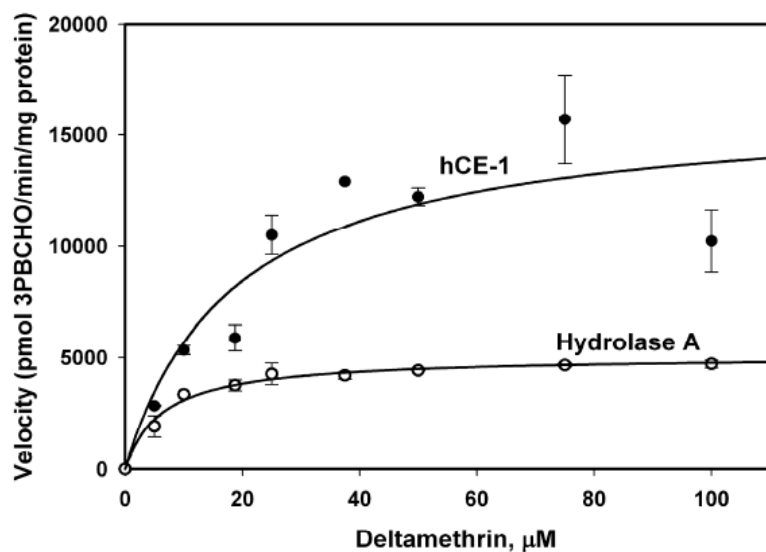


Figure 02. Cinétique de l'hydrolyse de deltaméthrine par carboxylestérase CE-1 humaine et Hydrolase A chez le rat. La vitesse a été mesurée par la quantité de 3-phénoxybenzyl-dihydrate (3PBCHO) libérée au cours de la réaction d'hydrolyse, (Godin *et al.*, 2007).

Chez l'homme : La DLT est métabolisée par hydrolyse de la liaison ester par les carboxyles estérases1 (CE-1) du foie et du plasma à des fractions acides et alcooliques relativement non toxiques en acide (cis- (2,2 Dibromovinyl) -2,2-diméthylcyclopropane-1-carboxylique (Br₂CA) et de l'acide [3-phénoxybenzoïque] (3-PBA) (Nieradko et Borzecki, 2015 ; Ding *et al.*, 2004), selon la réaction ci-après illustrée par la (figure 3).

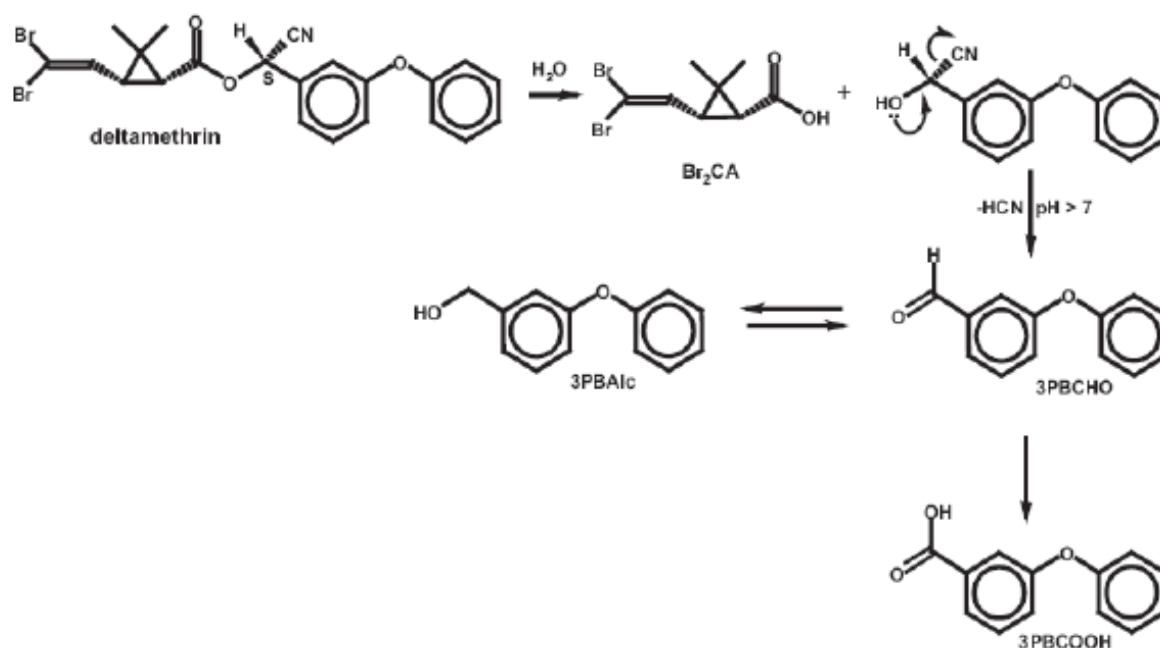


Figure03. Métabolisme hydrolytique de la deltaméthrine (Godin *et al.*, 2007).

Chez le rat : La DLT est métabolisé par oxydation soit via le NADPH oxydase soit via P₄₅₀ qui catalyse l'hydroxylation aromatique de DLT. Ces processus sont suivis d'une conjugaison par estérase de sulfate et de glucuronide (figure 4) (Nieradko et Borzecki, 2015 ; Ding *et al.*, 2004 ; Godin *et al.*, 2007).

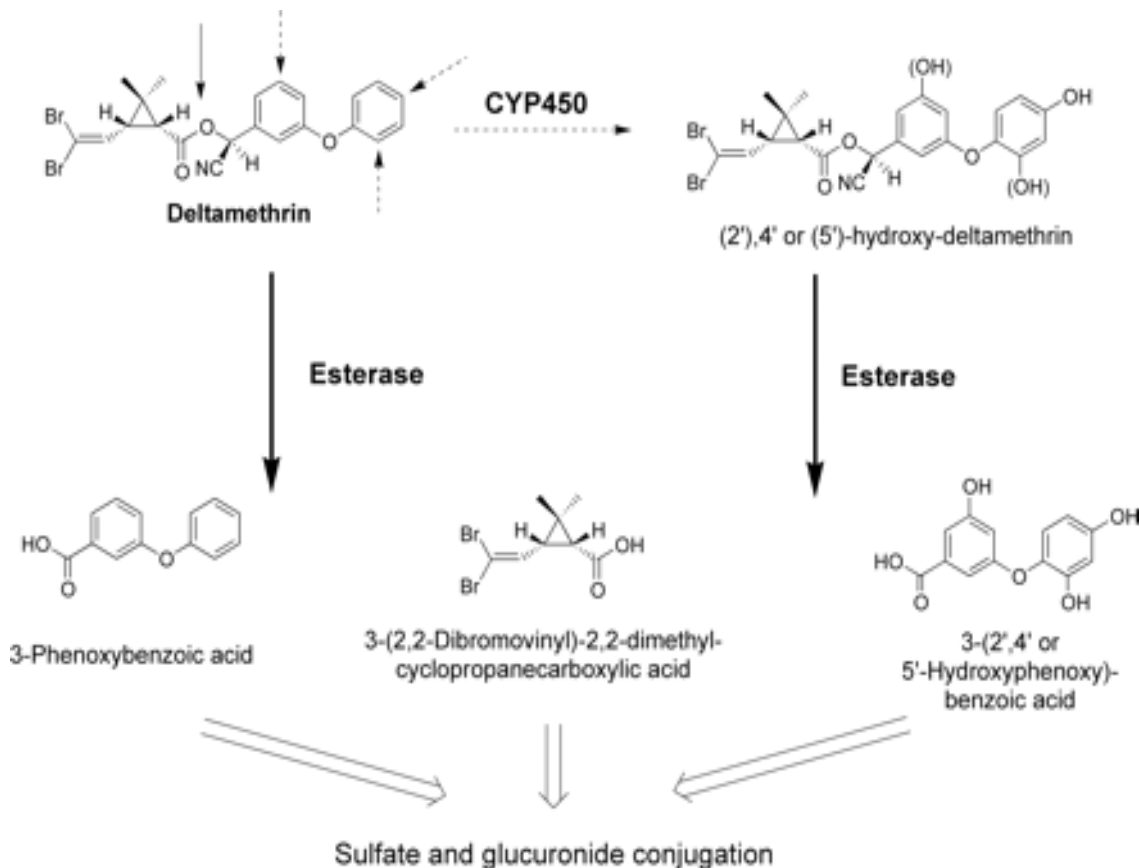


Figure04. Oxydation de DLT par le CYP 450 chez le rat (Godin *et al.*, 2006).

Le temps de demi-vie d'élimination de la DLT chez le rat était de 38,5 heures lorsqu'elle était administrée par voie orale et de 33,0 heures lorsqu'elle était administrée par voie intraveineuse. Aussi, les études *in vitro* du métabolisme micro somatique hépatique suggèrent que la clairance intrinsèque hépatique de la DLT est presque deux fois plus rapide chez les humains que chez les rats. L'examen de toutes les données d'excrétion fécale pour la DLT suggère que presque 13-37% d'une dose administrée n'est pas absorbée et éliminée directement dans les selles (Godin *et al.*, 2007). Cependant, l'élimination du DLT dépend de la voie métabolique qui est utilisée dans leur réaction catalytique chez différentes espèces. Des études montrent que l'élimination de DLT chez le rat, qui est métabolisée en NADPH-indépendant (dépendant d'hydrolase A) conduit à une diminution de K_{cat} (K catalytique) et de K_{cat} / k_m , tandis que ce dernier est augmenté quand la réaction catalytique est par NADPH- indépendant (CE-1-dépendant) chez l'homme (Godin *et al.*, 2007). Le tableau 3 montre bien les valeurs des paramètres cinétiques de la réaction d'hydrolyse de

DLT par les différentes hydrolases humaines et animales. Par ailleurs, la vitesse d'élimination de DLT dépend de la présence/absence de NADPH chez le rat et chez l'homme (tableau 3) (figure 5) (figure 6).

Enzyme	Km (μM)	Vmax (nmol/min/mg)	kcat (min^{-1})	kcat/Km ($\text{min}^{-1} \text{mM}^{-1}$)
human CE-1 ^a	22.6 \pm 3.7	21.4 \pm 7.2	1.3 \pm 0.4	56.3
human CE-2 ^a	1.6 \pm 1.6	0.6 \pm 0.1	0.035 \pm 0.003	21.1
rat Hydrolase A	6.3 \pm 0.4	4.5 \pm 0.8	0.27 \pm 0.04	42.7
rat Hydrolase B	2.0 \pm 4.9	1.1 \pm 0.3	0.07 \pm 0.02	35.2

Tableau 3. Les valeurs des paramètres cinétiques de la réaction d'hydrolyse de DLT par les différentes hydrolases humaines et animales (Godin *et al.*, 2006).

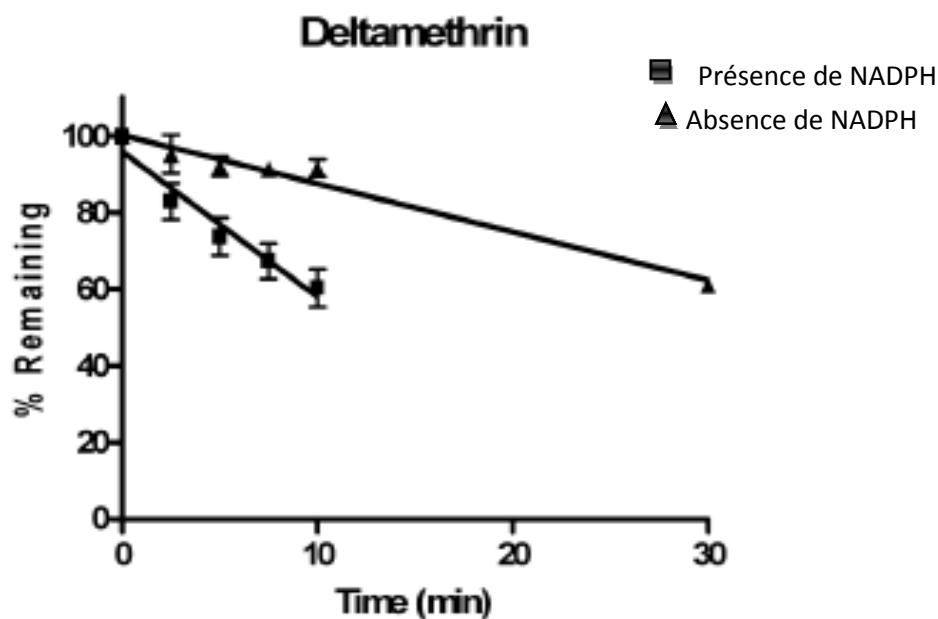


Figure 05. Elimination de DLT chez le rat dans le microsome hépatique en absence/présence de NADPH (Godin *et al.*, 2006).

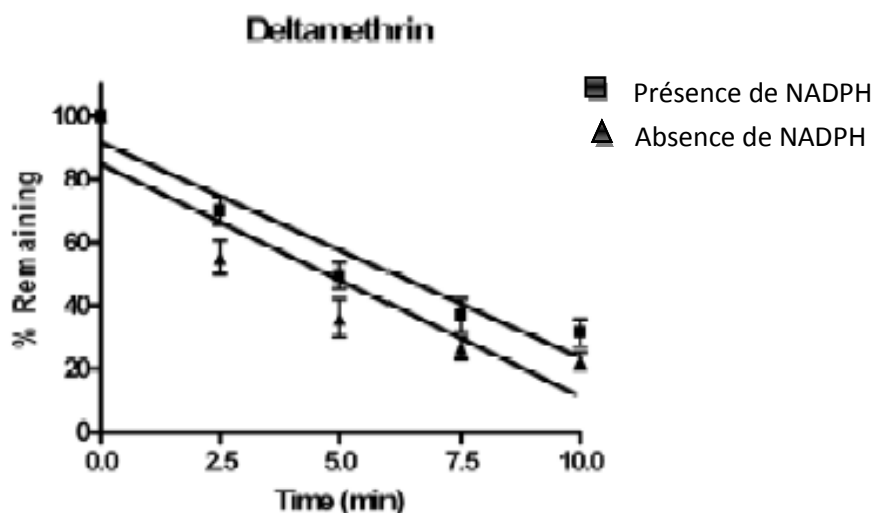


Figure 06. Elimination de DLT chez l'homme dans le microsome hépatique en absence/présence de NADPH sans NDPH Godin *et al.*, 2006).

3.3. Actions de la deltaméthrine

3.3.1. Sur les canaux ioniques

La DLT induit des changements de conformation dans la structure alpha et bêta de sous-unités des canaux sodiques et retarde la fermeture de ces canaux, ce qui se traduit par un afflux de sodium et une dépolarisation lente et prolongée (Shivanoor *et al.*, 2016). Les génomes de mammifères contiennent neuf isoformes de sous-unité α (désignées Nav1.1-Nav1.9 : voltage-gated sodium channels) au nombre de 9, dont quatre (Nav1.1, Nav1.2, Nav1.3 et Nav1.6) sont exprimés dans le cerveau, les deux isoformes des canaux sodiques 1et 6 sont plus sensibles aux pérythrinoides parce qu'elles sont les isoformes les plus abondantes dans le cerveau adulte et sont exprimées préférentiellement aux nœuds de Ranvier (He and Saoderlund, 2016). La DLT est un pyrèthrinoïde plus efficace, car elle peut non seulement affecter les canaux sodiques des filaments nerveux comme les autres pyrèthrinoïdes, mais aussi les récepteurs GABA, le chlorure et les canaux calciques dans le cerveau (Ren *et al.*, 2016). La membrane cellulaire est le site d'action des insecticides pouvant modifier l'intégrité structurale et fonctionnelle de cette membrane et ils agissent également sur les enzymes membranaires, telles que Na^+ / K^+ ATPase, Ca^{2+} et Mg^{2+} ATPase. En effet, des travaux antérieurs ont montré lors de l'exposition à la DLM une inhibition de Na^+ / K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} ATPase (Mani *et al.*, 2014). L'inhibition des ATPases dans les neurones conduit à des dommages neuronaux (Galal *et al.*, 2014).

3.3.2. Sur les neuromédiateurs

Il est admis que les pyréthrinoides sont des inhibiteurs du métabolisme de l'acétylcholine. En effet, des résultats des travaux antérieurs ont montré que la DLT est une molécule pouvant inhiber l'acétylcholinestérase (Sharma *et al.*, 2015). Ces mêmes études ont mis en évidence des différents sites de liaison sur la structure de l'AchE. Ces études structurales de l'AchE indiquent la présence de différents sites de liaison, l'un, un site de liaison sélectif des cations aromatiques ; deux sites estérasiques et le troisième est un site de liaison de substrat anionique périphérique. La molécule de DLT interagit à la fois avec le site estérasique et le site anionique, sachant que le site actif d'AchE est principalement construit par les résidus Phe (338), Trp (86), Ser (203), Glu (327) et His (440) (Figure 11). Le Trp et Phe constituent le site de liaison cationique et la Ser et l'His constituent le site de liaison estérasique de l'enzyme. L'acétylcholine se lie aux sites estérasiques et anioniques d'AchE. La présence d'acides aminés aromatiques dans le site actif de l'enzyme crée une région hydrophobe avec laquelle on suppose que les pyréthrinoides, y compris la DLT, peuvent interagir et provoquer une inhibition de l'activité AchE (figure 7).

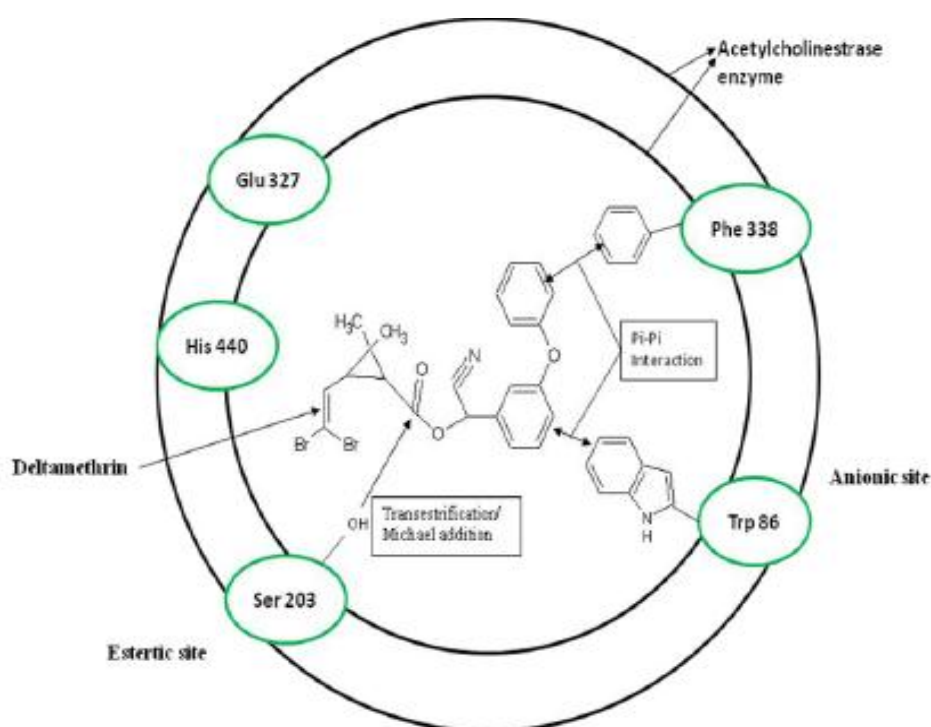


Figure 07. Sites de liaison possibles de la DLT avec AchE (Sharma *et al.*, 2015).

Les travaux de Sharma et ses collaborateurs (2015) ont montré que la DLT a causé une toxicité considérable pour le cerveau du rat Wistar. Cette neurotoxicité est dose-dépendante, elle est induite

par formation de radicaux libres et un mécanisme de défense antioxydant réduit l'inhibition de l'activité AchE. L'activité inhibitrice AchE de DLT peut être le résultat de son interaction avec le site de liaison anionique de l'enzyme.

Le traitement quotidien continu des rats avec la DLT pendant 10 jours entraîne une diminution de la teneur en dopamine dans le striatum par une inhibition sélective de la synthèse de la dopamine tout en permettant son renouvellement par les dopaminergiques. En outre, les données ont révélé pour la première fois que le traitement par la DLT inhibe l'activité et les expressions de l'ARNm de la tyrosine hydroxylase (TH), responsable sur la vitesse de la voie de synthèse nigrostriatale de ce neurotransmetteur (Liu *et al.*, 2006).

3.3.3. Action apoptotique

L'apoptose est l'un des mécanisme moléculaire clé des maladies neurodégénératives, régulée par certaines protéines telles que Bcl-2 et Bax qui jouent des rôles respectifs antiapoptotiques et pro-apoptotiques (Khalatbary *et al.*, 2015). Des études *in vivo* et *in vitro* indiquent que la DLT induit l'apoptose dans le cerveau et les neurones corticaux au niveau moléculaire, par des modifications dans l'expression de p53, Bax et Bcl-2 dans le cerveau de rat (Liu *et al.*, 2015). En effet, la dose de 12,5 mg / kg (*in vivo*) de traitement par DLT conduit à l'augmentation persistante de l'ARNm de p53 et de Bax, ce qui peut contribuer à l'apoptose. D'autres travaux de recherches antérieurs ont également montré que DLT (10, 100 et 1000 nM) a augmenté l'expression de p53 et Bax, alors que l'expression de Bcl-2 a été significativement réduite après 24, 48 et 72 h de l'administration du pesticide, dans les neurones corticaux cérébraux (Kumar, 2015). L'augmentation de la production p53 peut diminuer également l'expression de Bcl-2, conduisant par conséquent à un rapport accru de Bax, induisant donc l'apoptose chez le cerveau de rat (Wu *et al.*, 2015). La DLT peut avoir un effet sur l'apoptose via l'altération de l'expression de cytochrome-c mitochondriale chez les neurocytes de rat (Khalatbary *et al.*, 2015). Cette enzyme est une petite protéine hémistique, impliquée dans l'initiation de l'apoptose. Lorsque le cytochrome-c se lie avec la protéine Apaf-1 en présence d'ATP la caspase-9 est activée, conduisant à une cascade de maturation des caspases. Une fois la caspase-3 est maturée elle provoque la mort cellulaire (figure 8) (Yang *et al.*, 2017).

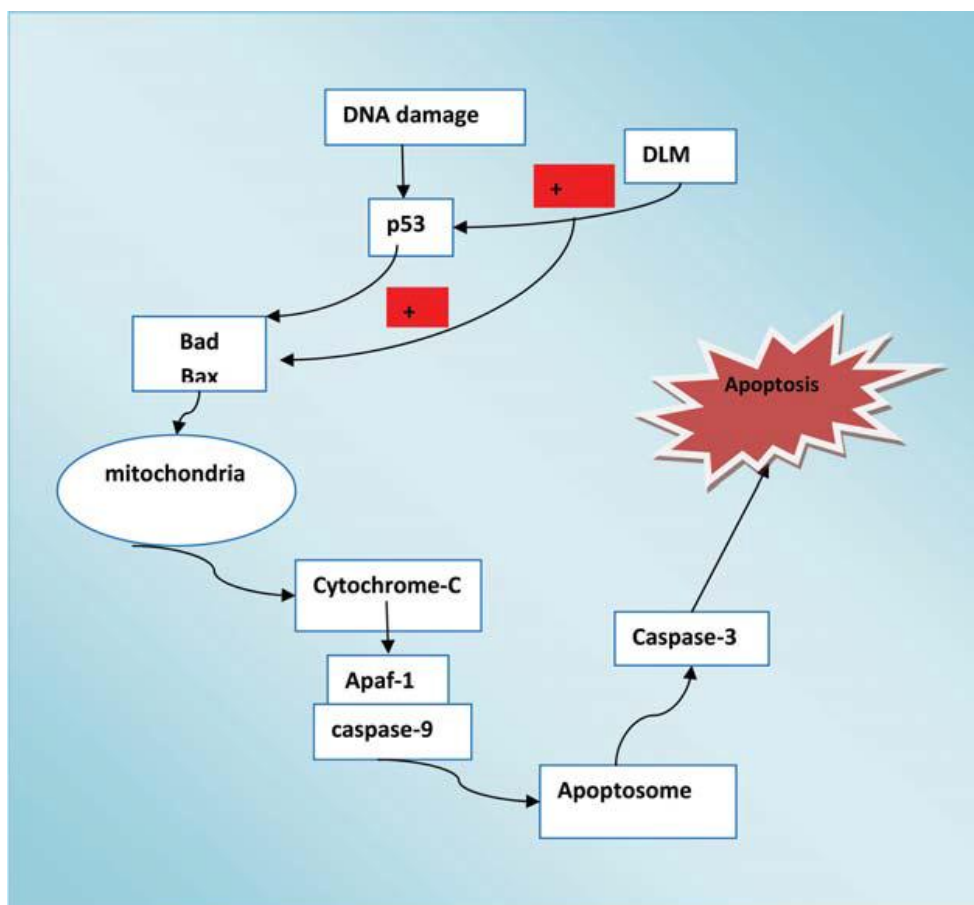


Figure 08. Action de la DLT sur le p53 induisant l'apoptose (Kumar, 2015).

En plus des voies intrinsèques et extrinsèques de l'apoptose, la voie de stress au niveau de réticulum endoplasmique (RE) peut être également impliquée à l'initiation de l'apoptose. En effet, le RE joue un rôle dans l'augmentation de la libération de calcium susceptible d'activer la caspase-12, ce qui lui même active la caspase-9 et 3, conduisant à l'apoptose. Diverses cellules peuvent être également activées par la DLT qui conduit à la mort cellulaire dans les cellules humaines neuroblastome SK-N-AS. Ce dernier constat a été rapporté par les travaux de Muhammad et ses collaborateurs (2011), qui ont observé que l'influx de calcium est augmenté par DLT à des doses allant de 100 nM-5 mM, qui activent la voie de stress dans le RE (Hossain and Richardson, 2011). La DLT active la voie de stress de RE par son interaction avec les canaux $Na\beta$ et le calcium, conduisant à l'initiation de la cascade apoptotique par activation de la calpain-1 de la caspase-12 (Figure 9).

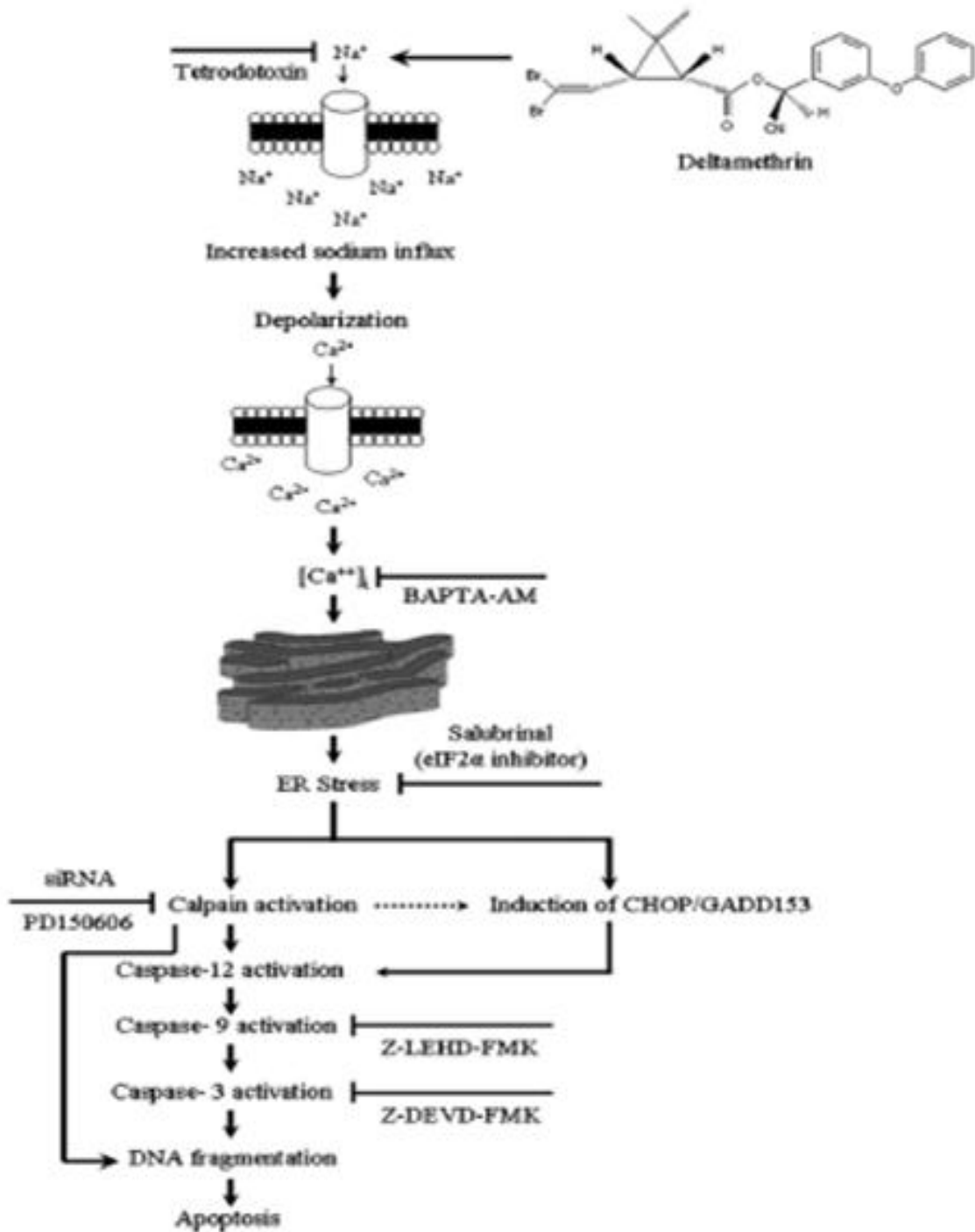


Figure 09. La voie de signalisation de stress par DLT (Hossain and Richardson, 2011).

L'activation persistante de la voie de stress RE est liée à la perte progressive des neurones entraînant une neurodégénérescence et un dysfonctionnement cognitif, ce qui peut être le résultat de la réduction de la plasticité synaptique et la viabilité neuronale dans l'hippocampe. Donc l'exposition répétée à la DLT provoque le stress RE de l'hippocampe et des déficits d'apprentissage chez la souris adulte. De plus, ces effets étaient associés à une diminution de la prolifération des

cellules dans le gyrus denté (DG) de l'hippocampe, suggérant un effet potentiel sur la neurogénèse hippocampique chez l'adulte (Hossain and Richardson, 2011).

3.3.4. L'Action sur le statut Redox

L'induction du stress oxydatif est l'un des principaux mécanismes de nombreux pesticides pyréthrinoïdes. Lors de l'exposition à la DLM, des espèces réactives d'oxygène (ROS) sont générées et entraînent une oxydation. La peroxydation lipidique entraîne des changements dans la structure des protéines et des ADN et une influence sur le système de défense antioxydant (Mania et Sadiq, 2014). Des études ont démontré que DLM induit un stress oxydatif dans des tissus fonctionnellement différents, prouvé par l'augmentation du taux de MDA, accompagnée d'une diminution simultanée des taux d'enzymes antioxydantes, notamment SOD, CAT, GPx et GR (Shivanoor *et al.*, 2016). Par ailleurs, l'administration de DLT à la dose de 15mg / kg a modifié les paramètres biochimiques du foie chez la rate ainsi qu'une régression de l'activité de la cytochrome P₄₅₀ et d'autres molécules antioxydantes (Kumar, 2015).

4. Bifenthrine

4.1. Définition

Le bifenthrine (BF) est un cyclopropane carboxylate d'alcool (Nieradko *et al.*, 2015), dont la nomenclature est : 2-chloro-3, 3,3-trifluoroprop-1-enyl)-2,2-diméthylcyclopropanecarboxylate (Starr *et al.*, 2014). Cette nomenclature est donnée par la formule chimique de C₂₃H₂₂ClF₃O₂ (Abdolah *et al.*, 2011). Ce pesticide possède de fortes propriétés insecticides grâce à sa capacité de modifier le fonctionnement des nerfs en modifiant la cinétique des canaux sodique voltage dépendant chez les insectes (Nieradko *et al.*, 2015). Le bifenthrine a une faible solubilité dans l'eau, à un coefficient élevé de matière organique et stable sur une pH de 5-9,5 (Tewary *et al.*, 2005).

4.2. Toxicocinétique, métabolisme et dynamique du bifenthrine

4.2.1. Voies de contaminations

Les humains et les rats étant une partie du même écosystème sont constamment exposés professionnelle à (BF) par la contamination de l'environnement (au cours les applications agricoles, domestique, par inhalation et voie cutanée), ou par les concentrations élevées dans différents produits alimentaires ou applications thérapeutiques accidentelles par voie orale et dermique (Dar *et al.*, 2014).

4.2.2. Distribution de la bifenthrine et les changements sur l'activité locomotrice

Des études ont été réalisées sur les rats Long Evans à l'âge de 55 à 58 jours pour l'estimation des concentrations sanguines et cérébrales en (BF) en fonction du temps et doses administrés à l'aide de HPLC, et leurs relations avec l'activité locomotrice après de faire ce dernier (1 h à 4- et 7 heures après l'exposition à la BF avec 0-16 mg / kg ou 0-9 mg / kg, respectivement, n = 4-8 / groupe) (Yang *et al.*, 2009). Cette étude démontre que la dose administrée et les concentrations sanguines et cérébrales de la (BF) sont des prédicteurs du changement de comportement chez les rats. Cependant, le meilleur prédicteur de ces trois mesures de dose est la concentration du cerveau en bifenthrine, en partie parce que les paramètres de l'expérience (c'est-à-dire les points de temps de 4 et 7 heures), il était indépendant du moment de l'exposition. En revanche, la relation entre la dose administrée et les concentrations sanguines de bifenthrine avec l'activité motrice dépend du temps. En outre, ces résultats sont compatibles avec les données provenant d'autres études (Scollon *et al.*, 2006 ; Kim *et al.*, 2010) dans laquelle les concentrations de pyréthroides chez les parents étaient associées à des effets comportementaux.

Dans les premières heures après une exposition orale à un produit chimique, sa concentration dans le sang peut changer en raison de la dynamique de ce compartiment. Les concentrations de produits chimiques dans le sang sont sensibles à l'absorption, à la distribution et à la clairance métabolique et rénale. Selon la volatilité du produit chimique, le dégagement pulmonaire peut aussi être un facteur important. Après les phases d'absorption et de distribution, les concentrations de produits chimiques dans le sang sont moins dynamiques (Wolansky *et al.*, 2006). L'étude d'Edward *et al.* (2011), montre que la concentration de bifenthrine dans le sang était liée à la dose administrée de manière dépendant du temps. Les groupes de 4 et 7 h ont des pentes différentes lorsque la dose administrée était utilisée pour prédire la concentration sanguine. Il y a eu une baisse significative des taux sanguins, entre les points de temps de 4 et 7 heures, ce qui était probablement dû à la distribution de la bifenthrine dans les tissus et la clairance métabolique de la bifenthrine.

L'activité motrice est une mesure de la toxicité aiguë de la bifenthrine, l'exposition à la bifenthrine a produit une diminution dose-dépendante de l'activité motrice aux 4 et 7 h après le traitement. Ceci est conforme à des études antérieures qui ont démontré une réduction dose-dépendante de l'activité motrice chez les rats suite à des doses orales aiguës de pyréthroides tels que la deltaméthrine, la cyperméthrine, la perméthrine, la cisméthrine, le fenvalérat et la cyfluthrine (Wolinski *et al.*, 2006). La bifenthrine était plus puissante au point 4- qu'au point de temps de 7 heures et il n'y avait aucune différence dans la relation entre la dose administrée et les

concentrations cérébrales de la bifenthrine entre les points de temps de 4 et 7 heures. La relation entre la concentration cérébrale et la diminution de l'activité motrice était équivalente entre les deux points de temps et indique que les concentrations cérébrales sont un contraste plus élevé que les concentrations sanguines et la dose administrée des effets comportementaux aigus de la bifenthrine (Degroote *et al.*, 2014).

Plusieurs études suggèrent que la toxicité des pyréthroïdes se produit lorsque les concentrations de pyréthroïdes du système nerveux central dépassent les seuils. Les estimations seuils pour la deltaméthrine des expositions iv chez les rats vont de 100 à 500 ng / g de tissu cérébral (Degroote *et al.*, 2014).

Les études portant sur les concentrations et le comportement des tissus ont porté sur des changements de comportement à dose élevée tels que des tremblements, de la choréathetose et de la sévérité (Nieradko and Borzecki, 2015) la concentration de bifenthrine cérébrale correspondant à une diminution de 50% de l'activité motrice était d'environ 289 ng / g (figure 10). Les données de cette étude sont cohérentes avec des études antérieures suggérant que des concentrations plus élevées de pyréthroïdes de type I sont nécessaires pour produire des toxicités comportementales que les pyréthroïdes de type II. Cependant, en tant que canal de sodium, la cible proposée des pyréthroïdes est présente dans le système nerveux central et périphérique, ces résultats ne peuvent pas exclure un rôle pour un effet de la bifenthrine sur le système nerveux périphérique (Mukherjee *et al.*, 2010).

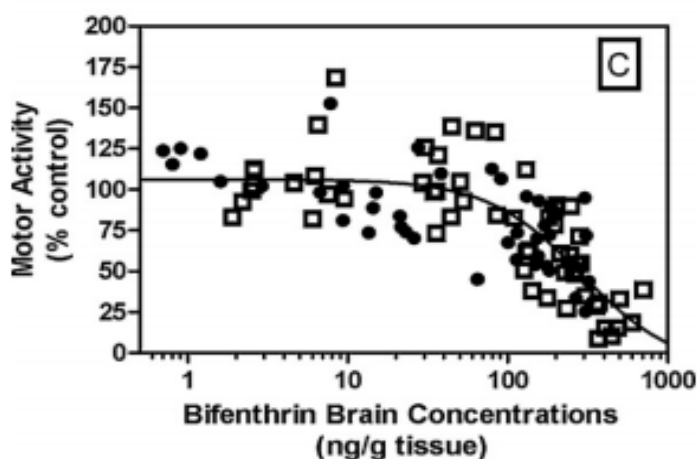


Figure10. La relation entre les concentrations cérébrales et l'activité motrice à 4 et 7 h après l'administration orale de bifenthrine chez les rats mâles. Un modèle unique correspond à toutes les données et est représenté par une ligne solide.

4.2.3. Métabolisme

Après une exposition de 7 jours chez le rat, la plupart des bifenthrine radio marquées ont été éliminées dans les urines ou les excréments, une partie importante étant convertie en divers métabolites. Certains des principaux métabolites dans les selles et l'urine comprennent l'hydroxyméthylbifenthrine, la 40-hydroxybifenthrine, la 30-hydroxyméthylbifenthrine, l'acide 40-hydroxybiphényle, l'acide biphényle et l'alcool 40-hydroxy-biphénylique. Les principales voies de biotransformation de la bifenthrine ont été étudiées chez des rats et comprennent une oxydation entraînant une hydroxylation du composé via des enzymes de cytochrome P-450 dépendant de NADPH, un clivage par estérases ou par hydrolyse. Les réactions de phase I peuvent également être suivies par des réactions de conjugaison entraînant l'élimination du composé (Abdolah *et al.*, 2011).

4.3. Action de la bifenthrine

4.3.1. Sur les canaux sodiques

Des études réalisées sur le mode d'action de la bifenthrine sur les canaux sodique dans les neurones corticaux cérébraux du cerveau du rat nouveau-né, où les effets toxiques sont largement générés. La bifenthrine a provoqué un courant à la fin d'une impulsion dépolarisante, un courant après la repolarisation et une modification de repos significative (25,3% de modification à 10 mM). La bifenthrine a également provoqué un changement d'hyperpolarisation dépendant de la concentration dans l'activation et l'inactivation à l'état régulier ainsi que la récupération ralentie de l'inactivation du canal. La dépolarisation répétitive a augmenté la puissance de la bifenthrine avec une fréquence élevée. Ces résultats suggèrent que la bifenthrine se lie et modifie les canaux de sodium dans les états fermés et ouverts (figure11) (Yang *et al.*, 2009 ; Li *et al.*, 2014).

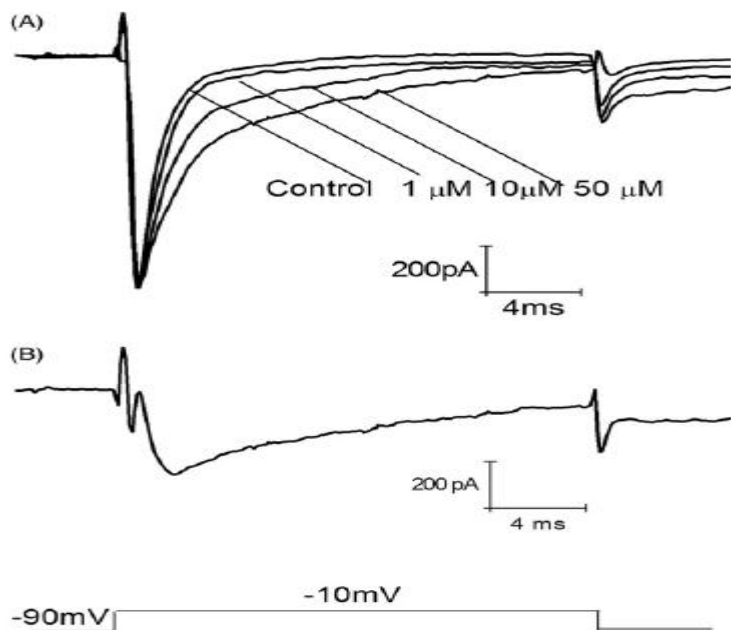


Figure 11. Modification dépendant de la concentration des courants de sodium dans les neurones corticaux cérébraux par la bifenthrine. (A) Les traces ont été enregistrées à partir d'une seule cellule avant l'exposition à la bifenthrine (témoin) et après l'équilibrage avec des concentrations croissantes de bifenthrine. (B) Le courant de sodium net modifié par la bifenthrine 50 μM a été reconstruit par l'induction du courant de contrôle modifié par la bifenthrine Mesuré dans la même cellule.

4.3.2. Action sur l'acétylcholinestérase

L'AChE pourrait également être inhibée en raison des dommages oxydatifs par bifenthrine, ce dernier il a un potentiel pro-oxydant, mis en évidence par peroxydation lipidique (LPO) important, et des altérations dans diverses enzymes antioxydants dans le tissu cérébral. De nombreuses études ont rapporté l'inhibition de l'AChE avec des pyréthroïdes types I. Où Rao et Rao (1995) ont démontré lipophile élevée des pyréthrinoïdes comme le mécanisme clé pour interagir à l'aromatique, hydrophobe de l'AChE entraînant son activité inhibée (Dar *et al.*, 2014 ; Dar *et al.*, 2015).

1. Organisation et physiologie générale du système nerveux

1.1. Anatomie générale du SN

Le système nerveux (SN) est un système complexe dont le fonctionnement de base est électrique (white *et al.*, 1952). Il est le système qui est contrôlé toutes les fonctions de l'organisme (yan *et al.*, 2007). Selon des considérations anatomiques, physiologiques ou fonctionnelles, on décrit:

- Le système nerveux central (encéphale, tronc cérébral, cervelet, moelle épinière). Son organisation comprend systématiquement de la substance grise (les noyaux des neurones) et de la substance blanche (les axones) (Marieb, 2005).
- le système nerveux périphérique (nerfs crâniens et nerfs rachidiens).

Ces nerfs constituent les voies afférentes aussi appelées voies sensitives qui transforment les informations des récepteurs vers le système nerveux central et les voies efférentes aussi appelées voies motrices qui transforment les réponses du système nerveux central vers les effecteurs. Les voies efférentes se divisent en deux parties :

- Les efférences somatiques qui amènent les réponses vers les muscles squelettiques.
- Les efférences autonomes qui amènent les réponses vers les muscles lisses, le muscle cardiaque et les glandes et qui se divisent elles-mêmes en efférences sympathiques et en efférences parasympathiques (Marieb, 2005).

1.2. Physiologie du SN :

Les cellules nerveuses diffèrent des autres cellules du corps du fait de leur capacité à communiquer rapidement l'un avec l'autre, cette communication rapide se fait par la conduction axonale et la transmission synaptique. Cette dernière peut être électrique ou chimique (Devedeix, 2009). Ce flux nerveux est un moyen de communication entre le SNC et les autres organes de l'organisme (figure 12).

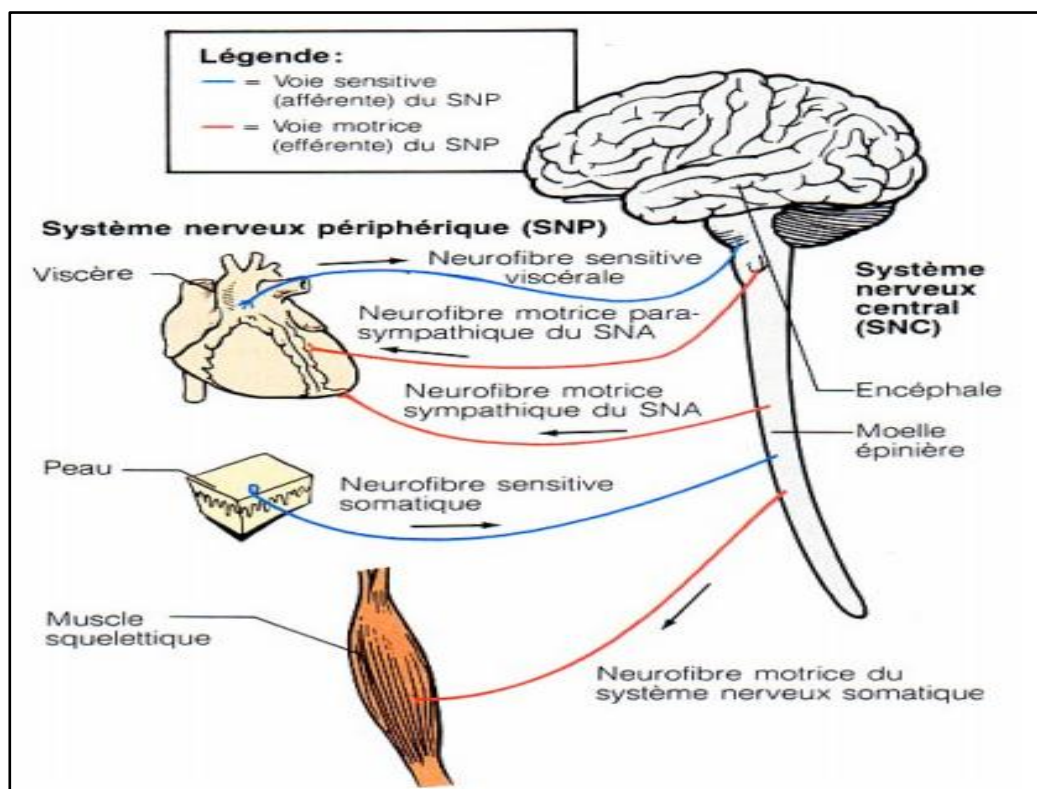


Figure 12. Organisation générale du cerveau et des organes (Devedeix, 2011).

1.3. La transmission chimique (flux nerveux)

L'élément pré-synaptique, reçoit un potentiel d'action, où l'ouverture des canaux ioniques situés sur la membrane pré-synaptique permettant l'entrée de calcium dans la cellule ce qui conduit à la libération des neurotransmetteurs (comme l'acétyl choline) enfermés dans les vésicules dans la fente synaptique. Ces neuromédiateurs fixés sur les récepteurs situés sur la membrane de l'élément post-synaptique et provoquent à un mouvement ionique perturbant l'équilibre de l'ensemble post synaptique, c'est-à-dire la dépolarisation de ce dernier par l'émission d'un potentiel d'action au niveau post synaptique (Dong *et al.*, 2010) (figure 13).

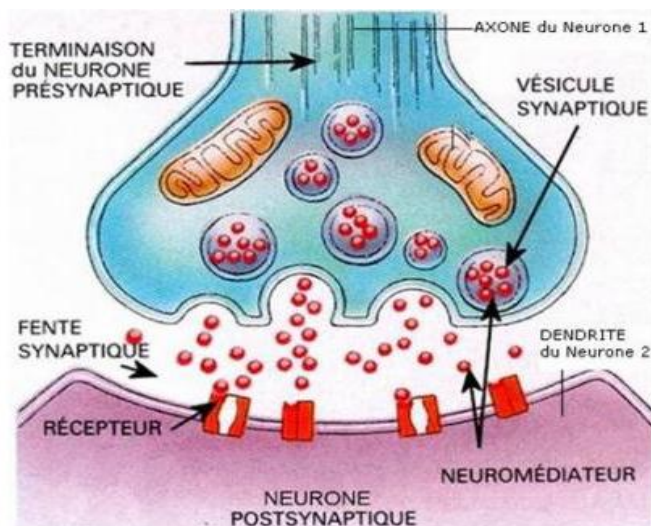


Figure 13. La transmission des signaux nerveux (Fouchey, 2009).

1.4. Anatomie régionale du SNC

1.4.1 Anatomie et fonction de l'hippocampe

L'hippocampe a une structure bilatérale, située sous le néocortex, sur la surface médiane basale des lobes temporaux (Figure14) (taupin, 2007). Ce dernier c'est une composante clé du circuit de mémoire (Mufson *et al.*, 2016).

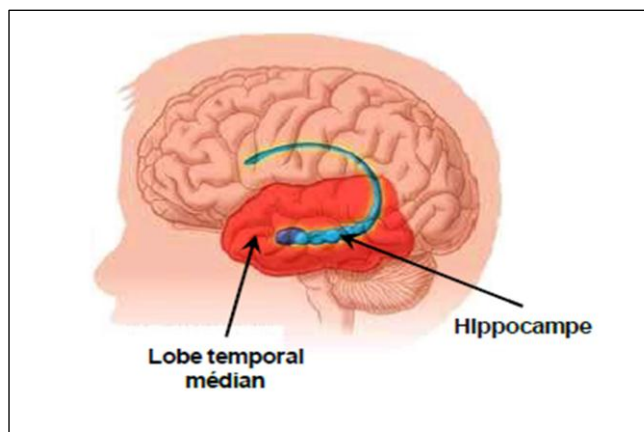


Figure 14. Représentation du lobe temporal médian et de l'hippocampe chez l'homme (Jacob, 2014)

L'hippocampe proprement dit, parfois dénommé champs amoniens, est divisé en plusieurs champs de cellule, appelés CA1, CA2, CA3 et CA4. Adjacente à ces champs sont un certain nombre d'autres structures, y compris les subiculum (qui peut être subdivisé), le gyrus dentatus et le cortex entorhinal (parfois appelé le cortex gyrus parahippocampique) (figure15) (Parkin, 1996).

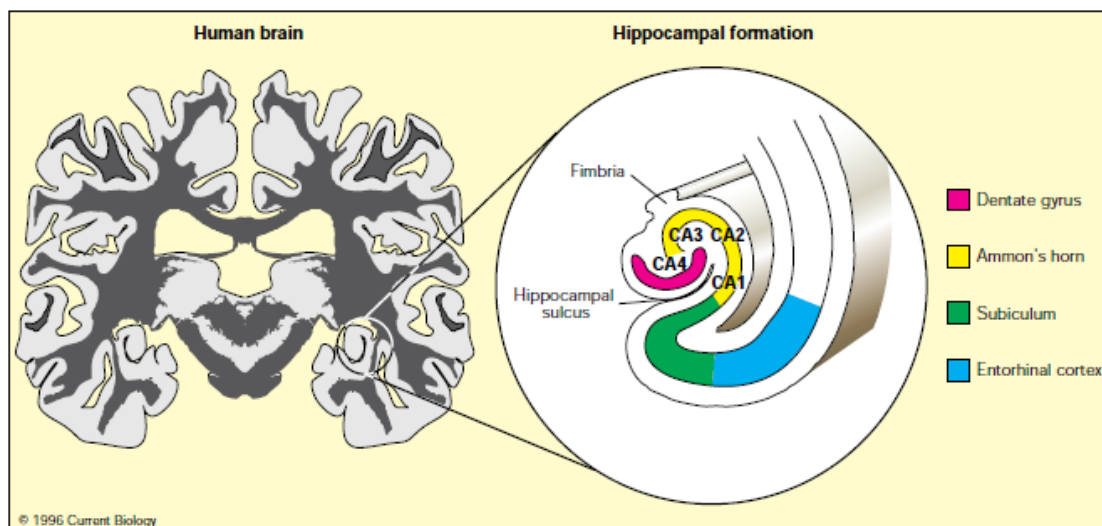


Figure 15. La formation de l'hippocampe (Parkin, 1996).

Chez l'Homme, l'hippocampe et le cortex rhinal sont deux structures du lobe temporal Médian qui jouent un rôle très important dans la mémoire déclarative ; l'hippocampe serait Plus important que la CE pour le rappel de nouvelles informations apprises (Miller, 1998).

La mémoire déclaratif appelé aussi la mémoire implicite repose principalement sur des zones cérébrales impliquées dans la fonction motrice, telles que le cervelet et le striatum, tandis que la mémoire explicite implique l'hippocampe et les cortex apparentés (Lazarov et Hollands, 2016).

1.4.2 .Anatomie et fonction de striatum

Le striatum est un noyau gris central volumineux. Chez les primates, il est composé de deux structures : le noyau caudé et le putamen, séparés l'un de l'autre par les fibres de la capsule interne. Ce passage de fibres lui confère son aspect strié, d'où son nom de striatum. Le noyau caudé et le putamen ont une origine embryologique commune et, au niveau antérieur, ils ne sont que partiellement séparés par la capsule interne dorsalement et sont unis par le noyau accumbens au niveau ventral. Le striatum est fonctionnellement divisé en striatum dorsal et ventral. Le striatum dorsal est constitué par la plus grande partie du noyau caudé et du putamen et alors que le striatum ventral est en plus formé par le noyau accumbens et les tubercules olfactifs (Heimer *et al.*, 1987).

Le striatum est principalement impliqué dans la motricité volontaire mais également dans la motricité automatique. Il joue un rôle crucial dans le comportement psychomoteur, en étroite collaboration avec le cortex cérébral. Son rôle dans les fonctions motrices a été déduit des lésions neuropathologiques observées dans les maladies neurodégénératives qui affectent le contrôle des mouvements, comme la maladie de parkinson et la maladie de huntington. N'ayant aucun accès direct aux motoneurones spinaux, les ganglions de la base (ou noyaux gris centraux) influencent le

comportement moteur en agissant sur le cortex moteur via le thalamus (motricité volontaire) et sur le tronc cérébral (motricité automatique) (Parent, 1990).

Le rôle du striatum est prépondérant au sein de ces circuits, où il constitue une sorte de "porte d'entrée". Il est en effet la cible majeure des afférences corticales aux ganglions de la base. Le principe général du circuit principal (cortico-striato-thalamo-cortical) est le suivant : l'ensemble du cortex projette sur le striatum (Divac *et al.*, 1977), l'information est ensuite acheminée à travers les noyaux gris centraux (striatum, globus pallidus, substance noire) jusqu'au thalamus, dont les neurones prémoteurs projettent sur le cortex moteur qui assure l'exécution du mouvement. Deux voies, directes et indirectes, permettent de traiter l'information entre le striatum et les autres ganglions de la base. Dans la voie directe, dont la résultante est excitatrice sur le cortex moteur, le striatum projette directement sur le segment interne du *globus pallidus* et la substance noire *pars reticulata*. Les neurones striataux de la voie directe expriment la substance P et le récepteur dopaminergique D1. La voie indirecte, dont la résultante est inhibitrice sur le cortex moteur, fait relais dans le segment externe du *globus pallidus* puis dans le noyau sous-thalamique. Les neurones striataux de la voie indirecte expriment l'enképhaline et le récepteur dopaminergique D2. La régulation du circuit est assurée par deux voies : d'une part les projections dopaminergiques de la substance noire *pars compacta* modulent l'activité striatale en inhibant la voie indirecte par l'intermédiaire des récepteurs D2 et en facilitant la voie directe par l'intermédiaire des récepteurs D1 ; d'autre part le striatum reçoit des afférences glutamatergiques (excitatrices) du thalamus (van der Kooy, 1979).

2. Pathologies du SNC

2.1. La maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer (AD) est l'une des plus fréquentes maladies neurodégénérative et représente plus de 80% de cas de démence dans le monde entier chez les personnes âgées. Cela conduit à perte progressive de déclin mental, comportemental, fonctionnel et capacité à apprendre (Kumar *et al.*, 2015).

2.1.1. physiopathologie :

La production des plaques amyloïdes (A β) est un processus physiologique qui se produit dans les cellules neuronales et est essentiel pour l'activité normale synaptique. Il existe une réglementation rigoureuse de la production d'(A β) avec sa dégradation qui se produit via un signal immédiat transfert à travers la barrière hémato-encéphalique (Hubin *et al.*, 2016). Pathologiquement, les (A β) et les enchevêtrements neurofibrillaires (NFT) sont les principales formes de protéines agrégées impliquées dans AD. Les (A β) sont des agrégats de protéines visibles

dérivés des dimères et les oligomères de la protéine amyloïde- β du cerveau, alors que les (NFT) sont composés d'un compact réseau filamenteux de filaments hélicoïdaux de protéines tau hyperphosphorylées. Ensemble, ces neuropathologies on pense que les changements entraînent la perte de synapses et la mort des cellules neuronales, conduisant à une dysfonction cognitive (Yan *et al.*, 2016).

L'amyloidogénèse résulte de l'accumulation d'un polypeptide de 39 à 43 acides aminés, la protéine A β ou amyloïde β , dont le précurseur est l'APP. Ce dernier est dégradé selon plusieurs voies : l' α , la β ou la γ -sécrétase. L'A β , petit peptide hydrophobe, résulte de l'action de deux enzymes protéolytiques sur l'APP : un clivage à l'extrémité aminé par la β sécrétase puis un autre à l'extrémité carboxyle par la γ -sécrétase. L'APP est aussi dégradé par l' α et la γ -sécrétase et libère alors un peptide soluble nommé p3 non pathogène. La protéine A β existe sous deux formes correspondant en fait à deux longueurs : A β 40 et A β 42. La forme A β 42 a une tendance beaucoup plus forte à s'auto-agréger et favorise alors l'apparition de plaques amyloïdes (Touchon et Portet, 2004) (figure 16).

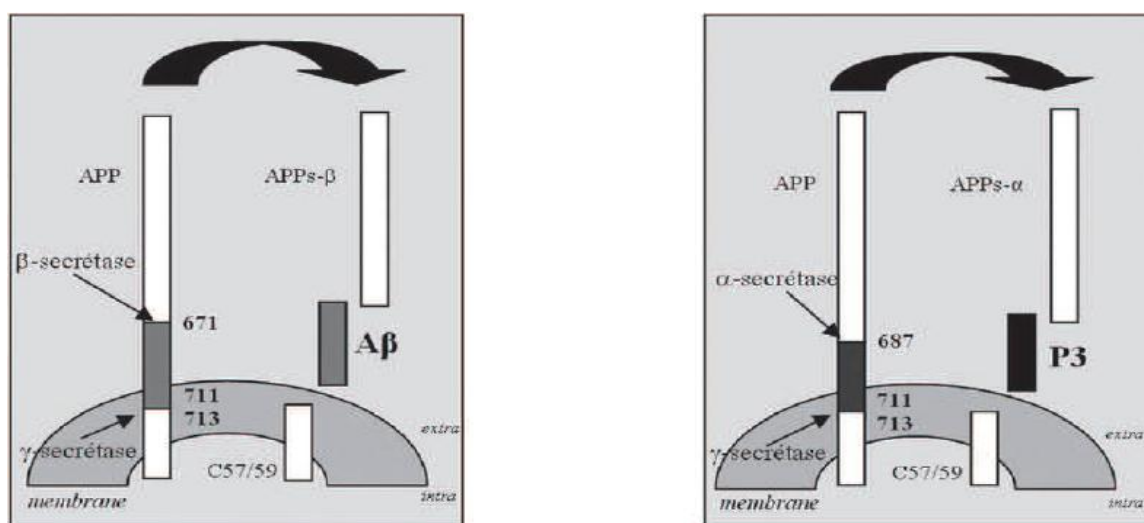


Figure 16. Les deux voie de clivage de l'APP (Govaerte *et al.*, 2007)

La figure de gauche représente schématiquement le clivage du peptide A β à partir de l'APP.

La β -sécrétase coupe l'APP après l'acide aminé 671 et provoque l'apparition d'APPs- β .

La γ -sécrétase clive au niveau de l'acide aminé soit 711 et libère ainsi le peptide A β 40, soit 713 et on obtient la forme A β 42 qui est la plus pathogène.

La figure de droite est une représentation schématique du clivage du peptide p3 à partir de l'APP.

L' α -sécrétase coupe l'APP après l'acide aminé 687 et provoque l'apparition d'APPs- α .

La γ -sécrétase clive en 711 ou 713 et libère le peptide p3, non pathogène.

Une étude *in vivo* a révélé que certains pesticides peuvent perturber les voies métaboliques impliquées dans l'homéostasie de l'amyloïde- β , provoquant une augmentation significative des niveaux d'amyloïde- β dans le cortex et l'hippocampe, comme ainsi qu'une augmentation de la perte de mémoire et une activité motrice réduite chez les animaux expérimentaux. Une étude *in vivo* a révélé que certains pesticides peuvent perturber les voies métaboliques impliquées dans l'homéostasie de l'amyloïde- β , provoquant une augmentation significative des niveaux d'amyloïde- β dans le cortex et l'hippocampe, comme ainsi qu'une augmentation de la perte de mémoire et une activité motrice réduite chez les animaux expérimentaux (Yan *et al.*, 2016).

La deltaméthrine diminue le nombre des cellules BrdU⁺, ceux engagés dans la phase S mitotique, dans la DG de l'hippocampe, ce qui suggère que la deltaméthrine peut réduire la neurogénèse hippocampique en endommageant les cellules progénitrices neuronales (NPCs) qui sont impliqués dans les processus d'apprentissage chez l'adulte hippocampe (Hossain *et al.*, 2015).

2.2. La maladie de Parkinson (PD)

La maladie de parkinson (PD) est la deuxième maladie neurodégénérative la plus commune au monde après la maladie d'Alzheimer (AD), il affecte 2% de la population âgée de plus de 60 ans (Torrent *et al.*, 2015), qui est accompagné d'un groupe de symptômes moteurs et non moteurs, parmi les symptômes moteurs de la (PD), comme la rigidité, le tremblement ou la bradykinésie, et l'instabilité posturale, sont principalement attribuables à la dégénérescence des cellules dopaminergiques et une diminution du niveau de la dopamine dans la région de la substantianigra (SN) (Fathy, 2015). D'autres symptômes non moteurs peuvent également être observés, tels que les troubles du sommeil, la dépression, la constipation, l'orthostatichypotension, les problèmes de déglutition et aussi les problèmes de mémoire ou la démence dans des stades plus avancés de la maladie (Velázquez-Paniagua *et al.*, 2015).

2.2.1 Physiopathologie :

Dans les niveaux sains de cerveau, la dopamine (neurotransmetteur inhibiteur) et l'acétylcholine (neurotransmetteur excitateur), sont équilibrés. Cependant, la perte de neurones dopaminergiques réduit les niveaux de dopamine et leur effet inhibiteur sur les acétylcholines, ce qui conduit à bombarder les ganglions de la base, qui sont responsables de la planification motrice et de certaines fonctions cognitives, avec des signaux excitateurs. Cela ne se produirait que lorsque les niveaux de dopamine du striatum sont réduits environ 80%. La libération et la liaison de l'ADT à des récepteurs post-synaptiques détermine, à son tour, la libération d'acide β -aminobutyrique (GABA). Ce neurotransmetteur inhibiteur coordonne le mouvement dirigé par DAT et Ach. En PD, les niveaux de dopamine diminuent et l'activité cholinergique augmente dans le striatum. Cela signifie

que le GABA a besoin de coordonner le mouvement n'est pas tenu, ce qui entraîne des symptômes de la maladie de parkinson (rigidité, tremblements au repos et hypokinésie) (Velázquez-Paniagua *et al.*, 2015). La perte de dopamine dans le striatum à la suite de la dégénérescence neuronale progressive dans la substantianigra pars compacta (SNpc), est le marqueur primaire de la (PD) (Alam *et al.*, 2017). Plusieurs études épidémiologiques ont identifié l'exposition aux pesticides comme un facteur de risque important pour la maladie de parkinson (Elwan *et al.*, 2006).

L'exposition aux pérythrine était associée à des changements dans les concentrations de DAT striatal et ses métabolites, l'acide 3,4-dihydroxyphénylacétique (DOPAC) et l'acide homovanillique (HVA) chez les modèles de rat. Ainsi, si ces perturbations se produisent pendant une période critique, comme le développement neurologique, causer une perturbation du développement normal, conduisant à des changements de fonction (Kung *et al.*, 2015).

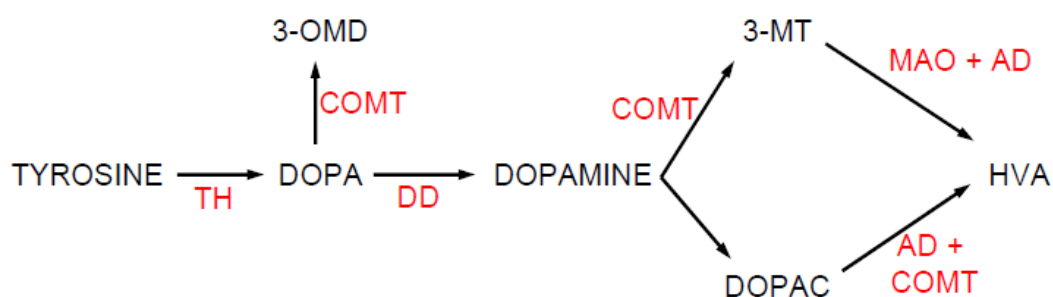


Figure 17. Biosynthèse et catabolisme de la dopamine (Lagrué, 2009).

AD = Aldéhyde déshydrogénase, COMT = Catéchol - O - Méthyl - Transférase, DD = DOPA décarboxylase, MAO = Monoamine oxydase, TH = tyrosine hydroxylase

Nous avons constaté que le traitement avec de la deltaméthrine augmentait les niveaux de DOPAC et de HVA, deux métabolites majeurs de la dopamine et les (DOPAC +HVA) / DA, reflétant le taux de rotation de la dopamine dans le striatum. Ces données suggèrent que la deltaméthrine augmente le catabolisme de la dopamine dans le nigrostriatum. Cependant, en raison de l'utilisation étendue de la deltaméthrine et des pesticides apparentés, la possibilité que l'exposition à long terme aux pesticides provoque des lésions dans les neurones dopaminergiques dans le SNC et contribue au développement de la maladie de parkinson soit à la fois des problèmes professionnels et de santé publique (Liu *et al.*, 2006).

3. Pharmacologie (quercétine)

Au cours de la dernière décennie, les flavonoïdes ont suscité un intérêt scientifique croissant en raison de leurs fonctions biologiques bénéfiques, telles que les propriétés antioxydantes, antiprolifératives et anti-inflammatoires (Nguyen *et al.*, 2015). Les flavonoïdes peuvent être classés en six sous-groupes principaux: flavonones, flavones, isoflavones, flavanols, flavanones et anthocyanidines (Magalingam *et al.*, 2015).

La quercétine, 3, 5, 7,3', 4'-pentahydroxyflavone, est une composante majeure de sous-classe de flavonol et représente 60 à 75% du total apport de flavonoïdes. C'est avant tout conjugué à un fragment de glucides et constitue l'épine dorsale de autres flavonoïdes tels que la rutine, l'hespéridine, le naringénine et tangeritine (Suganthi *et al.*, 2016). Il peut exercer des actions bénéfiques sur le système nerveux central (SNC) tels que la neuroprotection, l'antiséexualité et l'amélioration effet cognitive (Priprem *et al.*, 2008).

3.1. Quercétine: Absorption, Métabolisme et Biodisponibilité

Les glycosides de quercétine présents dans les aliments, tels que le glucoside de quercétine, sont déglycosylés à la quercétine aglycone avant absorption passive dans l'intestin grêle. L'enzyme impliqués dans cette première réaction sont la lactase phlorizine hydrolase (Une bêta-glucosidase) et / ou une bêta glucosidase dérivée de microbiota intestinale, selon la nature du glycoside. L'aglycone de la quercétine subit des effets importants et étendus réactions de biotransformation pour former des glucuronides, des sulfates, et métabolites méthylés, indiquant une implication des enzymes de phase II UGT (uridine 5-diphosphoglucuronosyltransférase), SULT (sulfotransférase), et COMT (catechol-O-méthyltransférase) (Costa *et al.*, 2016).

Chez le rat, une partie de la dose de la quercétine absorbée dans l'intestin grêle est conjugué et sécrété dans l'intestin lumen. La dose (23.0-81.1%) de grandes quantités de quercétine est récupérée comme $^{14}\text{CO}_2$ dans l'air expiré des volontaires après les deux fois et des doses intraveineuses de ^{14}C -quercétine, indiquant métabolisme étendu (Moon *et al.*, 2008).

Des études chez les rats et les porcs ont montré que la quercétine distribue à plusieurs tissus, en particulier le poumon, le rein, le côlon, et le foie, avec des niveaux inférieurs dans le cerveau. Quercétine totale dérivé de l'alimentation est normalement présent dans le plasma gamme nanomolaire (<100 nM) mais peut être augmentée à la faible concentration micromolaire après supplémentation de la quercétine l'aglycone ou les glycosides.

La demi-vie des gammes de quercétine entre 11 et 28 h, ce qui suggère la possibilité d'augmentation de la concentration plasmatique lors de la supplémentation. En général, la biodisponibilité de la quercétine est faible et varie considérablement chez les individus, bien que le sous-jacent les mécanismes sont mal compris. Seules des quantités limitées d'aglycone de quercétine sont trouvées après l'ingestion de quercétine, bien qu'il y ait une certaine controverse sur cette question (voir, par exemple, et méthylé, sulfaté, et les glucuronide metabolites sont les plus importants trouvé dans le plasma. Des études ont montré que les glucuronidés les métabolites ont des capacités antioxydantes in vitro et in vivo. Un problème important pour l'utilisation potentielle de la quercétine dans est de savoir s'il passe la barrière hémato-encéphalique (BBB) et quelles concentrations de quercétine et / ou de ses métabolites sont présent dans le tissu cérébral. Études in vitro avec des modèles BBB indique systématiquement que la quercétine pénètre dans le cerveau. Lors de l'administration de quercétine in vivo à des rats et les porcs, les bas niveaux (de picomolaire à nanomolaire) sont trouvés dans le tissu cérébral. Les intérêts à cet égard sont intéressants les récents efforts réussi à augmenter la biodisponibilité de quercétine. En particulier, la formulation de quercétine dans les nanoparticules lipidiques augmente considérablement sa pénétration dans le cerveau (Costa *et al.*, 2016).

3.2. Effets neuroprotecteurs de la quercétine:

Des preuves complètes appuient l'idée que les régimes riches en polyphénols et / ou supplémentation avec des composés spécifiques fournir des effets bénéfiques sur la santé. En particulier, les polyphénols ont montré qu'ils exercent des actions de protection dans plusieurs pathologies telles que les maladies neurodégénératives. Des preuves spécifiques existent sur les effets neuroprotecteurs de quercétine. Plusieurs études montrent que la quercétine peut exercer une neuroprotection et antagoniser le stress oxydatif lorsque administré in vivo. Par exemple, la quercétine orale (0,5- 50mg / kg) a été montré pour protéger les rongeurs contre le stress oxydatif et la neurotoxicité induite par diverses insultes neurotoxiques. La quercétine a également antagonisé les troubles cognitifs induits par nourrir une souris à un régime riche en matières grasses (Costa *et al.*, 2016).

II: Etude expérimentale

I. Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1. Les animaux et conditions d'hébergement

Cette étude a été réalisée en utilisant des rats *Wistar Albinos* femelles provenant de l'institut pasteur d'Alger. Les animaux pesant entre 130 et 150g sont élevés dans des cages de 07 rats chacun. Ils ont libre accès à la nourriture standard (Crockette) et à l'eau. La température de l'animalerie est maintenue à $(24 \pm 1^\circ\text{C})$ avec une hygrométrie de 60 % et une photopériode de jour et nuit pendant les mois février, mars et avril.

1.2. Choix et préparation des doses

Nous avons utilisé la Bifenthrine (Bifendus[®]) et la Dltaméthrine (Decis[®] EC 25) en solo et en mixture. Selon la littérature documentée, il s'avèrent que les doses journalières admissibles (DJA) sont égale à 1/50 DL₅₀, (Bavoux *et al.*, 2007 ; Beausoleil *et al.*, 2009) (tableau 04).

Tableau 04 : La DL₅₀ et le DJA de DLT et de la BF, (Bavoux *et al.*, 2007 ; Beausoleil *et al.*, 2009)

Pérythrinoïdes	DL50	1/50 (DL50)
DLT	130mg/kg	2,6mg/kg
BF	186mg/kg	3,72mg/kg

1.3. La préparation des solutions

Nous avons préparé des solutions de ces deux pesticides en quantité suffisantes pour chaque semaine pendant 03 mois. Une administration journalière pendant 3 mois de la deltaméthrine (DLT) et de la bifenthrine (BF) à des doses respectives de 2 ,6 mg/kg ,3.72 mg/kg véhiculées par l'huile de maïs. Par ailleurs, la quercétine a été également administrée pour un groupe préventif recevant les mêmes doses des pesticides à la dose de 5 mg /kg pour les rats recevant un seul pesticide, et la dose de 10 mg /kg pour les rats recevant la mixture des deux pesticides toujours par le même véhicule.

1.4. Répartition et traitement des animaux

Dans cette étude, les animaux sont répartis en (07) lots de (07) rats chacun. Le traitement est réalisé par l'administration des solutions préparées par gavage gastrique à l'aide d'une sonde fixée à une seringue et ce, quotidiennement pendant 3 mois, (tableau 01).

Tableau 05. Répartition et traitement des animaux.

N° de lot	Nombre de rats par lot	Traitement des rats
1	7	Animaux témoin en recevant une administration chaque jour par voie orale 0,5 ml d'huile de maïs pour chaque rat.
2	7	Animaux traité recevant une dose de BF de 3,72 mg/kg dissout dans l'huile de maïs et administrée par voie orale.
3	7	Animaux traité recevant une dose de DLT de 2,6 mg/kg dissout dans l'huile de maïs et administrée par voie orale.
4	7	Animaux traité par une mixture recevant (BF 3,72 mg/kg + DLT 2,6 mg /kg) dissout dans l'huile de Maïs et administrée par voie orale.
5	7	Animaux curative recevant BF + la quercétine (BF 3,72 mg/kg+ 5 mg /kg) dissout dans l'huile de maïs et administrée par voie orale.
6	7	Animaux recevant DLT + la quercétine (2,6 mg/kg+ 5 mg /kg) dissout dans l'huile de maïs et administrée par voie orale.
7	7	Animaux recevant une mixture + la quercétine (BF 3,72 mg/kg + DLT2,6 mg/kg + 10 mg/kg) respectivement dissout dans l'huile de maïs et administrée par voie orale.

2. Méthode

2.1. Test de reconnaissance d'objet

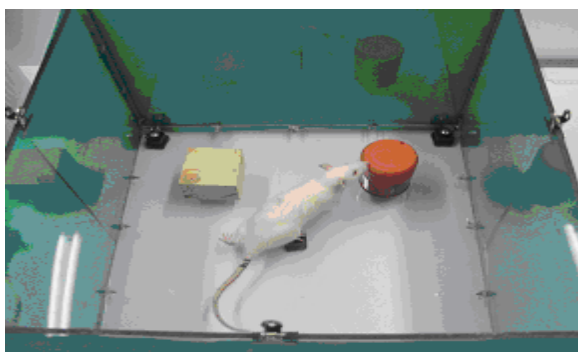


Figure 18. Test de reconnaissance d'objet (Ennaceur and Meliani, 1992).

2.1.1. Principe

Les animaux explorent naturellement préférentiellement un objet inconnu. Après une phase d'habitation à l'arène, les rats sont traités puis placés dans l'arène en présence de deux objets similaires (phase d'entraînement). Les temps passés à explorer chacun des objets sont enregistrés par vidéo. Pendant la phase de test, les animaux sont en présence d'un objet familier (exploré pendant la phase d'entraînement) et d'un objet nouveau. Un animal qui n'a pas de troubles mnésiques passera son temps d'exploration sur le nouvel objet. L'administration d'une substance à effet amnésiant entraînera un déficit cognitif lors de l'entraînement et un défaut de mémorisation. Pendant la phase de test, l'animal explorera l'objet familier autant que le nouvel objet, ce qui suggère qu'il a « oublié » sa phase d'entraînement. La substance est administrée avant l'entraînement (amnésie antérograde) ou après l'entraînement (amnésie rétrograde) selon la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de la molécule (Ennaceur et Meliani, 1992).

2.1.2. Procédure

La procédure consiste trois phases: habitation, familiarisation et phase de test. Dans la phase d'habitation, chaque animal est autorisé librement d'explorer l'arène à champ ouvert en l'absence d'objets pendant 10 min pour chaque rat. L'animal est ensuite retiré de l'arène et placé dans sa cage de maintien. Pendant la phase de familiarisation, un seul animal est placé dans l'arène à champ ouvert contenant deux objets d'échantillon identiques (A? A ?), pendant 10 pour chaque rat. Pendant la phase de test, l'animal est renvoyé sur l'arène à champ ouvert avec deux objets, l'un est identique à l'échantillon et l'autre est nouveau (A? B ?) pendant 5 min. L'enceinte est nettoyée par l'alcool entre chaque animal.

Les paramètres mesurés sont définis par Delacour et Ennaceur et puis utilisés par de très nombreux auteurs :

TF = temps passé sur l'objet F (familier)

TN = temps passé sur l'objet N (nouveau)

Plusieurs indices peuvent alors être calculés

.

L'indice d'exploration (EI) correspond au temps total d'exploration des objets.

$$EI = TN + TF$$

· L'indice de reconnaissance (RI) correspond la proportion de temps que l'animal passe sur le Nouvel objet ; il varie donc entre 0 et 100%.

$$RI = [TN / (TN + TF)] \times 100$$

L'indice de discrimination (DI) correspond à la proportion de temps que l'animal passe en plus à explorer le nouvel objet ; il varie donc entre -100% (si l'animal explore seulement l'objet familier) et 100% (si il n'explore que le nouvel objet)

$DI = [(TN - TF) / (TN + TF)] \times 100$ (Antunes et Biala, 2012).

2.2. Sacrifice des animaux et extraction du cerveau

Les animaux ont été sacrifiés par anesthésie (par chloroforme) après 3 mois du début du traitement, durée suffisante pour provoquer une toxicité chronique. Les animaux sont sacrifiés par décapitation, le cerveau est prélevé rapidement et subdivisé en 2 régions : l'hippocampe, striatum, qui constituent la source de suspensions cytosoliques nécessaires à l'évaluation de l'effet des pesticides et la quercétine sur le statut redox.

2.3. Evaluation du stress oxydatif mitochondrial et cytosolique

2.3.1. Extraction des mitochondries du cerveau

Chaque région du cerveau est immergée dans 4 ml du tampon TSE (250 mM sucrose 50 mM tris, 0,1 EDTA, PH 7,4 à 4°C) et potérisée dans un Potter de Dounce, ce qui permet la destruction des cellules et la libération des mitochondries. L'homogénat récupéré est ensuite centrifugé une première fois à 800g pendant 10mn à 4°C (centrifugeuse Sigma 3-16 pk) permettant ainsi l'élimination des gros débris cellulaires. Le surnageant issu de cette centrifugation est centrifugé une deuxième fois à 12000g pendant 10 mn à 4°C. Le culot obtenu est resuspendu dans 3 ml TSE et centrifugé à 12000 g pendant 10 mn à 4°C. Le culot obtenu de cette dernière centrifugation est resuspendu dans 3 ml du tampon TS (250mM sucrose, 50 mM tris base, pH 7,4) pour obtenir la suspension mitochondriale fraîche est utilisée pour la mesure du gonflement mitochondrial avant 06 heures maximum après sacrifice.

2.3.2. Dosage des protéines par la méthode de Bradford

2.3.2.1. Principe

Cette méthode détermine la concentration protéique, elle est basée sur une réaction colorimétrique entre les protéines et le bleu brillant de Coomassie (BBC) qui se lie avec les acides aminés aromatiques et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans les protéines. Une colorimétrie est susceptible de suivre le changement de l'absorbance proportionnellement à la quantité du colorant lié aux acides aminés indiquant ainsi la concentration en protéine dans l'échantillon.

2.3.2.2. Déroulement de dosage

Pour le dosage des protéines, 100 µl de la fraction cytosolique (100 µl BSA pour la gamme étalon) sont ajoutés à 4 ml du réactif bleu brillant de Coomassie (BBC). Après agitation au vortex et incubation à température ambiante pendant 15 min, la lecture de l'absorbance est effectuée à 595 nm (Bradford, 1976). La concentration des protéines est déduite à l'aide de la courbe d'étalonnage réalisé dans les mêmes conditions par la BSA (Bovin Serum Albumin).

2.3.3. Mesure du gonflement mitochondrial (mitochondrial-swelling)

L'intégrité et la perméabilité membranaire des mitochondries ont été évaluées selon la méthode de (Farhi, 2015). Brièvement, le changement d'absorbance était mesuré à 540 nm et la diminution de l'absorbance indique l'augmentation du gonflement mitochondrial, ce qui est le résultat de la perte du potentiel membranaire mitochondrial et de l'ouverture de PTP (permeability transition pore) mitochondrial. Le gonflement mitochondrial a été détecté par la mesure directe de l'absorbance à 540 nm à l'aide d'une spectrophotométrie (SHIMHDZU, UV mini 1240) la suspension mitochondriale fraîche avant 6 heures après le sacrifice à 4°C (Farhi, 2015).

2.3.4. Mesure de l'activité enzymatique de la Glutathion S- Transférase (GST) cytosolique

2.3.4.1. Principe

L'activité de la GST a été évaluée selon la méthode de Habig et ses collaborateurs (1974). qui consiste à fournir à l'enzyme un substrat, en général du chlorodinitrobenzène (CDNB), qui réagit facilement avec de nombreuses formes de GST et de glutathion.

2.3.4.2. Procédure

Un mélange de 1,7ml de tampon phosphate de 0,1 M de PH 6,5 et de 100 µl de CDNB à 20 mM a été préparé et incubé à 37°C pendant 10 min. La réaction est déclenchée par l'addition à ce mélange de 100 µl d'une solution de GSH à 20 mM et 100 µl de la fraction. Un contrôle est préparé dans les mêmes conditions avec tampon phosphate. L'absorbance est mesurée par spectrophotométrie à 340 nm toutes les minutes pendant 5 min. Les résultats sont calculés selon la formule suivante :

$$\text{Enzyme (UI/ml)} = \frac{(\Delta A_{340/\text{min test}} - \Delta A_{340/\text{min blanc}}) / V_t \times F}{9.6 \times V_e}$$

V_t : volume total (ml) de l'essai.

F_d : facteur de dilution.

9,6 : coefficient d'extinction (mM de glutathion- Chlorodinitrobenzène conjugué à 340nm).

V_e : volume (ml) de l'enzyme utilisée.

Les résultats sont exprimés en UI / g de protéine.

2.3.5. Mesure de l'activité enzymatique de la catalase mitochondriale (CAT)

2.3.5.1. Principe

L'activité enzymatique de la CAT est déterminée par la méthode de Clairbone (1985). Le principe de cette méthode est basé sur la disparition du H₂O₂ en présence la source enzymatique à 25°C

2.3.5.2. Procédure

1 ml de tampon phosphate 0,1M, pH 7,2 a été additionné de 0,95 ml de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) 0,019M et 100 µl de la fraction cytosolique. Puis l'absorbance a été mesurée par spectrophotométrie à 240 nm chaque minute pendant 2 minutes.



La cinétique de la CAT n'obéissant pas au modèle Michaelien, on n'a pas utilisé la loi de Beer – Lambert. La constante de vitesse de la catalase :

DO₀ : Absorbance à 0min

DO_t : Absorbance au moment t

T : Intervalle de temps

K : UI

L'activité enzymatique est exprimée en UI /g de protéine.

2.3.6. Dosage de la glutathion (GSH)

2.3.6.1. Principe

La méthode que nous avons employée (Akerboom et Sies, 1981) est basée sur l'évaluation spectrophotométrique du contenu stromacal en groupement $-SH-$. Lors de l'oxydation des protéines, les groupements SH sont et forment des pontes disulfures S-S.

Le principe de dosage des groupements $-SH-$ est basé sur leur réaction avec le réactif d'Ellman, le 5-5'-DiThiobis (2-acide NitroBenzoïque) (DTNB) pour former des quantités stoechiométrique de TNB (thionitrobenzoate) (figure 19), un composé jaunâtre ayant une densité optique maximale à $\lambda = 412 \text{ nm}$.

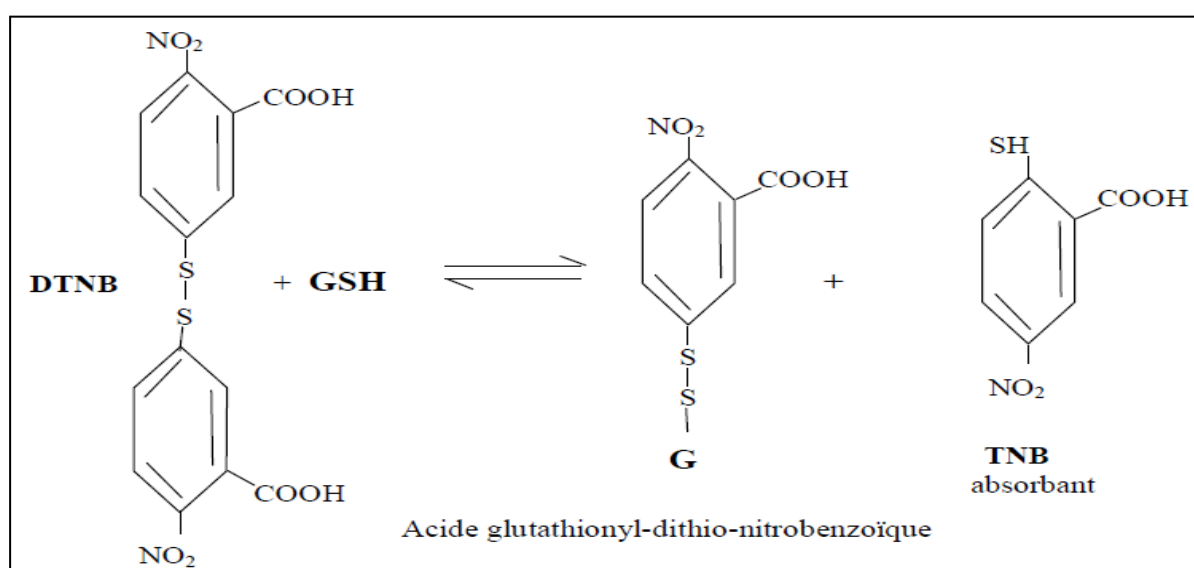


Figure 19 . Réaction de GSH avec DTNB, (Ellman, 1959).

2.3.6.2. Procédure

75 μ l de la fraction cytosolique sont additionnés à 2 ml de tampon phosphate Na₂HPO₄ (0.1M, PH= 8). Après agitation, 3ml sont prélevés de ce mélange au quels sont ajoutés 20 μ l de la solution DTNB 0.01M. Après incubation pendant 15 minutes à température ambiante l'absorbance est lue à 412 nm.

Le taux de GSH est déduit à partir d'une courbe d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions, et dans laquelle l'absorbance est une fraction linéaire de la concentration en GSH (μ mol/ml). Les résultats sont exprimés en μ mol/mg de tissu.

2.3.7. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

2.3.7.1. Principe

La réaction de dosage du MDA repose sur la formation d'un pigment en milieu acide et à chaud suite à une réaction entre le MDA et deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA). Ce pigment absorbe à 532 nm, extractible par les solvants organiques.

Le résultat du dosage MDA par l'acide TBA est donc la somme du MDA préexistant lié ou non aux molécules biologiques, des peroxydes lipidiques, des produits d'auto oxydation des acides gras et autres substance qui donnent naissance soit au MDA, soit à des molécules réagissant avec l'acide TBA en milieu acide et à chaud. C'est pourquoi à la notion initiale de dosage du MDA s'est substituée la notion de substances réagissant avec l'acide TBA (thiobarbituric acid reactive substances ou TBARS). L'extraction du dérivé MDA-(TBA)₂ est réalisée par le n-butanol à ph acide, cette opération permet d'éliminer en partie les interférents dans la réaction des TBARS.

2.3.7.2. Procédure

Nous avons procédé selon la méthode décrit par Okhawa et ses collaborateurs (1979). En résumé, 1 ml de la fraction cytosolique est additionné de 0.5 ml de TCA 20% et 1ml de TBA 0.67%. Ce mélange est ensuite incubé pendant 30 min au bain-marie à 100 °C, puis refroidit. Ensuite ce mélange est additionné de 2 ml de n-butanol puis centrifugé à 3000 tours / min pendant 15 min. Le surnageant obtenu est récupéré et son absorbance est mesurée à 532 nm.

Le taux de MDA est déduit à partir d'une droite d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions que les échantillons avec de 1, 1, 3, 3,-tetramethoxypropane «TEP». La concentration en MDA est exprimée en nmol /mg/ml de protéine.

Analyse statistique

Les résultats graphiques sont présentés sous forme de moyenne + d'écart type. L'évaluation statistique est effectuée en comparant les moyennes de groupe témoin et traités, en utilisant le test T de student avec :

P > 0,05 : La différence n'est pas significative (ns).

P < 0,05 : La différence est significative (*).

P < 0,01 : La différence est hautement significative (**).

P < 0,001 : La différence est très hautement significative (***) .

Résultats et Discussion

II. Résultats et discussion des paramètres de stress oxydatif

1. Test de reconnaissance d'objet

Ce test est réalisé pour tester les capacités de mémorisation des rats exposés au pérythrinoïdes. Nos résultats montrent des variations très hautement significative ($p < 0.001$) dans l'indice de reconnaissance RI et l'indice de discrimination DI après le traitement par BF et Mixt et les deux associés au Quer (figure 20).

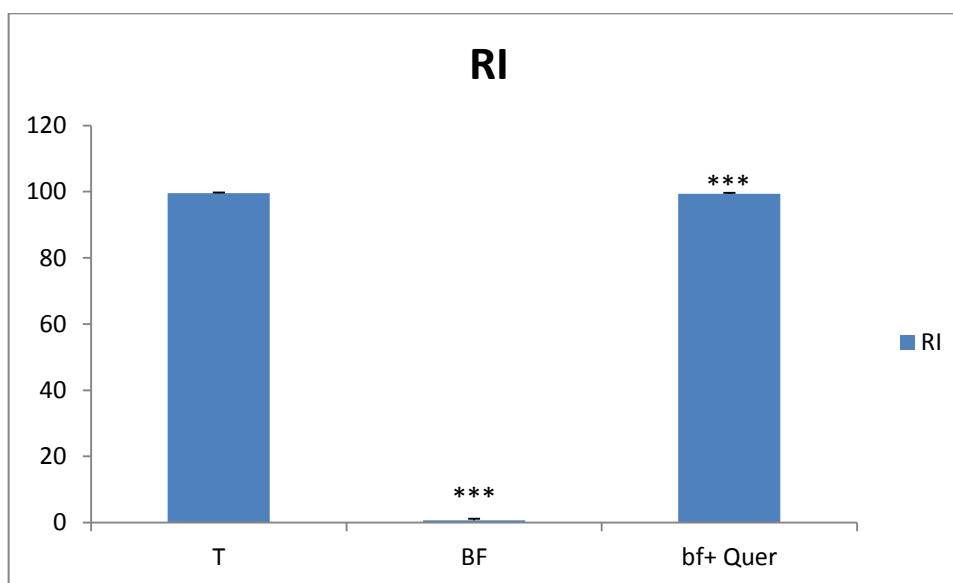


Figure 20. Variation de RI chez les rats traités par BF associé ou non avec la quercétine.

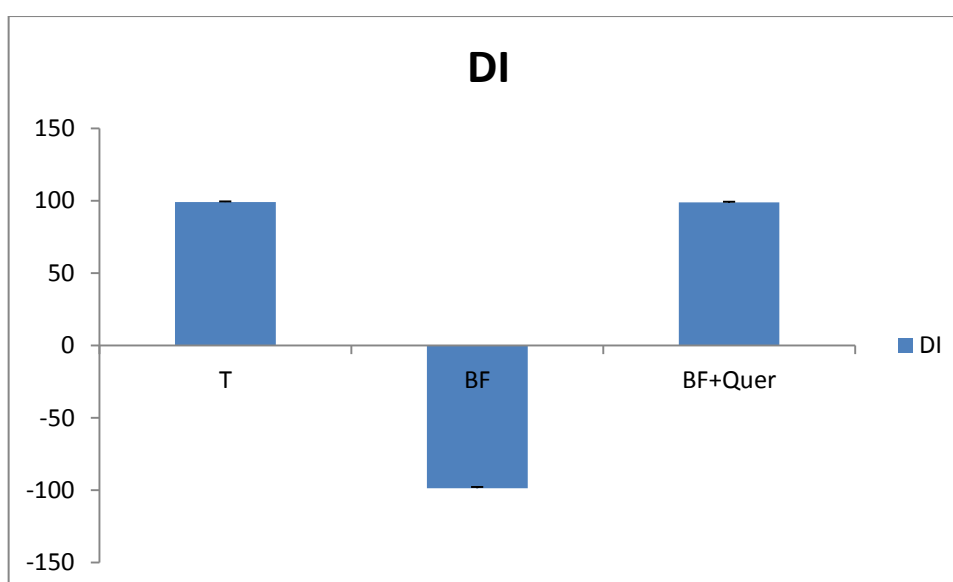


Figure 21. Variation de DI chez les rats traités par BF associée ou non avec la Quer.

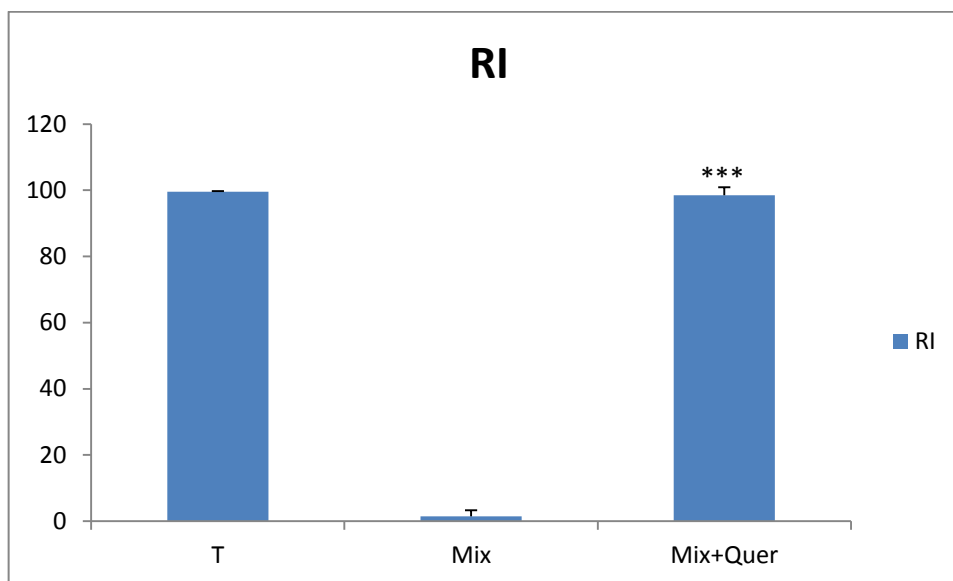


Figure 22. Variation de RI chez les rats traités par Mixt associe ou non avec la Quer.

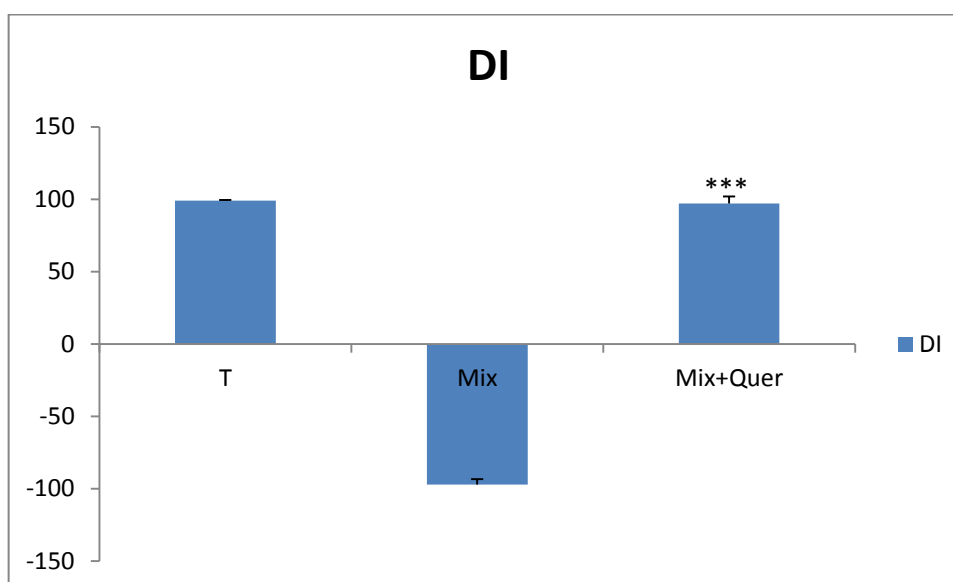


Figure 23. Variation de DI chez les rats traités par mixt associe ou non avec la Quer.

L'hippocampe est la région du cerveau qui est responsable à la fonction de la mémorisation de l'individu, l'accumulation des toxines comme les pérythrinoïdes dans notre cas peuvent conduire à une diminution des capacités de mémorisation due à un mécanisme moléculaire provoquant la mort cellulaire, est l'apoptose. Des autres facteurs qui sont altérer la fonction de la mémorisation sont la diminution accrue de certains neurotransmetteurs comme l'acétylcholine estérase et la dopamine.

2. Gonflement mitochondrial

Nos résultats montrent une augmentation significative ($p < 0.05$) et très hautement significative ($p \leq 0.001$) du gonflement mitochondriale par le traitement de BF dans l'hippocampe et le striatum respectivement, une augmentation significative par la DLT et la mixture dans le striatum et non significative dans l'hippocampe (ce phénomène se traduit par une diminution progressive de l'absorbance de la suspension mitochondriale à 540 nm (figure 24, 25, 26).

Aussi on observe que la quercétine (Quer) présente une diminution du gonflement mitochondriale par des variations non significatives ($p > 0.05$) après le traitement par DLT + Quer dans l'hippocampe et diminution très hautement significative dans le striatum sauf le groupe qui est traité par BF+ Quer montre une diminution significatives du gonflement dans l'hippocampe et non significative dans le striatum (figure 24, 25, 26). Pour le groupe qui traité par la mixt + Quer on observe une diminution hautement significative dans l'hippocampe et striatum.

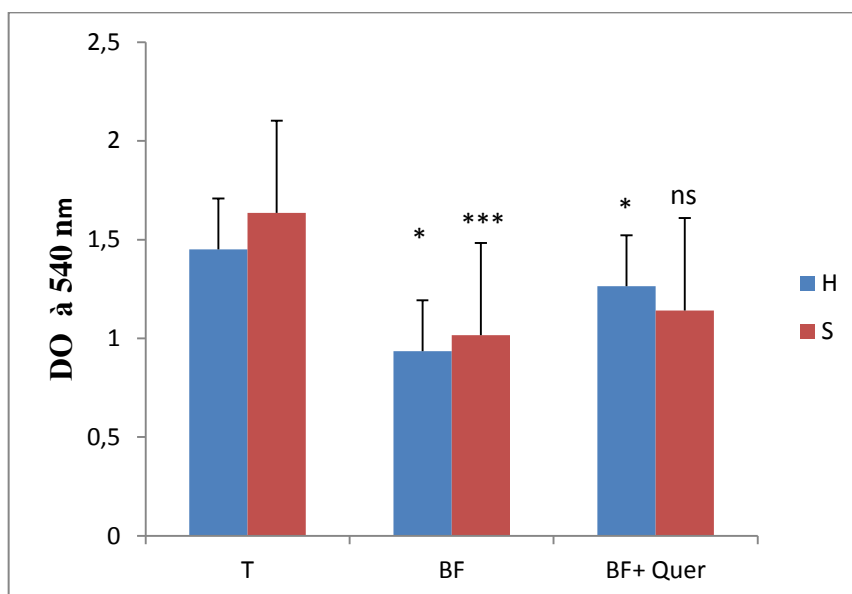


Figure 24. Effets de BF associée ou non à la quercétine dans différentes régions du cerveau (H : hippocampe, S : striatum, Quer : Quercitine). Les résultats de la variation du gonflement mitochondrial mesurée en fonction de la densité optique à 540nm, sous l'effet de la BF associée ou non à la Quer obtenus après une exposition chronique chez le rat.

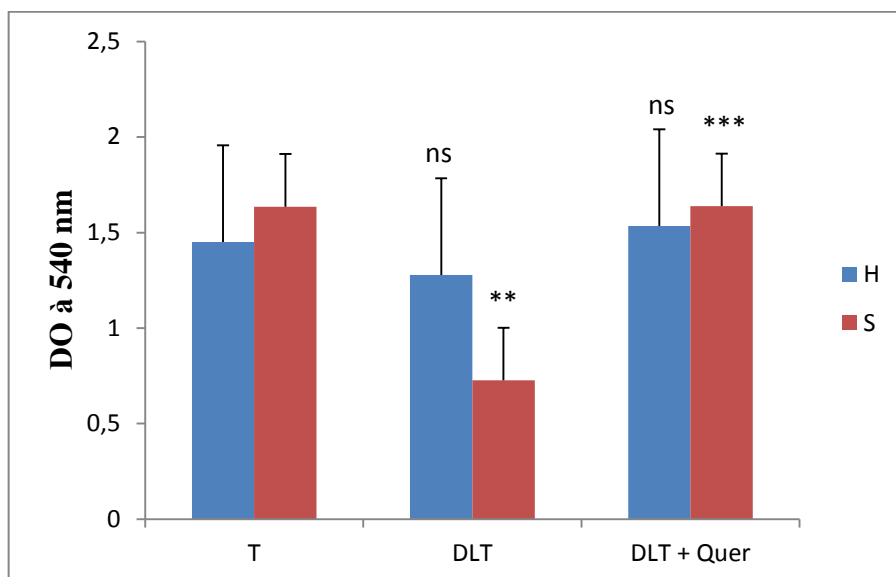


Figure 25. Effets de la DLT associée ou non à la quercétine dans différentes régions du cerveau (H : hippocampe, S : striatum, Quer : Quercitine). Les résultats de la variation du gonflement mitochondrial mesurée en fonction de la densité optique à 540 nm, sous l'effet de la DLT associée ou non à la Quer obtenus après une exposition chronique chez le rat.

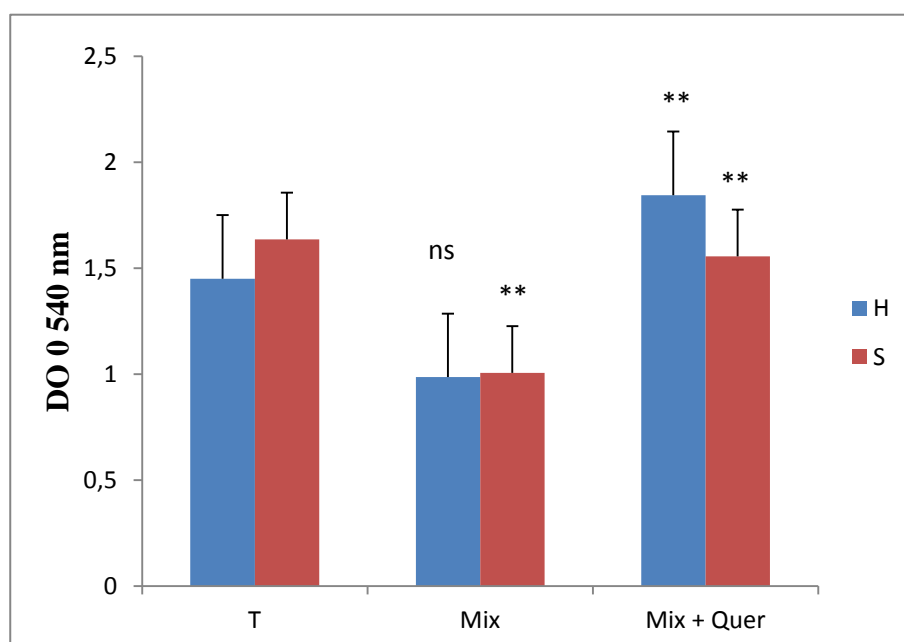


Figure 26. Effets de la Mixt associée ou non à la quercétine dans différentes région du cerveau (H : hippocampe, S : striatum, Quer : Quercitine). Les résultats de la variation du gonflement mitochondrial mesurée en fonction de la densité optique à 540nm, sous l'effet de la Mixt associée ou non à la Quer obtenus après une exposition chronique chez le rat.

D'après ces résultats nous jugeons que la BF et la DLT peuvent provoquer un gonflement mitochondriaux dans la plupart des cas et surtout dans le striatum. Ces résultats sont similaires à d'autres études comme l'étude de Gasmi et collaborateurs qui ont trouvés une augmentation significative ($p \leq 0.05$) de la perméabilité et du gonflement mitochondrial dans l'hippocampe et le striatum après un traitement de 0,32 mg / kg / jour de DLT pure pendant 90 jours.

Le gonflement mitochondriaux due à la formation des radicaux libres (Fethi *et al.*, 2014) et l'ouverture d'un canal de la membrane mitochondriale interne dénommé PTP (Permeability Transition Pore) (Devun, 2008). PTP joue un rôle dans le maintien de l'homéostasie du calcium (Marchi *et al.*, 2014). Dans l'état normal, ce pore est perméable sauf à des molécules de poids moléculaire inférieur à 1500 daltons (Lablanche, 2009). Le calcium est un inducteur majeur nécessaire à l'ouverture du pore varie en fonction de la présence de cofacteurs agissant soit comme activateurs (moins de calcium étant alors requis pour ouvrir le pore), soit comme inhibiteurs (plus de calcium étant requis pour ouvrir le pore). Les principaux activateurs physiologiques de l'ouverture du PTP sont le phosphate, la dépolarisation mitochondriale et toutes les situations pro-oxydantes (Zoratti *et al.*, 1955). A partir de ces informations qui sont trouvées dans la littérature nous suggérons que la BF et la DLT sont des pro-oxydantes qui peuvent conduire à une hyperperméabilité et un gonflement mitochondriaux neuronale (dû à la force osmotique des protéines restant dans la matrice). Le métabolisme de ces pro-oxydants par des systèmes enzymatique tel que le cytochrome p450 et NADPH du microsomes du foie provoque une augmentation de la production de l'oxygène (Banerjee *et al.*, 2001), la formation d'oxyde nitrique (NO), l'activation de la xanthine oxydase afin de former le superoxyde (O_2^-), une activation des systèmes enzymatiques en propriétés autolytiques pour la cellule, en particulier en générant un processus de lipolyse, de protéolyse, de phosphorylation de protéines et de participation à la désintégration de l'architecture cellulaire (Weigt *et al.*, 2015 ; Gasmi *et al.*, 2017). La formation des radicaux libres par ces insecticides entraîne le déroulement de la peroxydation lipidique (Kumar *et al.*, 2015). Ce dernier concerne l'oxydation des acides gras polyinsaturés comme les cardiolipines de la mitochondrie en présence de l'oxygène moléculaire avec des composés organiques (Cillard *et al.*, 2006) la peroxydation lipidique de la membrane détruit la structure de la matrice lipidique des membranes des neurones et associée à une perte rapide d'ATP intracellulaire conduisant à une diminution de la viabilité des neurones et à une augmentation de la dégénérescence cellulaire dans l'hippocampe et le striatum ont causé une perturbation physiologique et comportementale chez les rats traités avec DLT et BF (Gasmi *et al.*, 2017), modifie et augmente la perméabilité mitochondriale et provoque l'ouverture du pore et l'entrée accrue du calcium, des électrolytes, et l'eau, cela entraînera une rupture de la membrane externe de la mitochondrie (Ben-

Hai et hoshan, 2014) et la sortie des molécules pro apoptotique comme le cytochrome c qui est synthétisé comme un précurseur Apo-Cyt-c, puis il est transporté dans les mitochondries, où il est converti en protéine globulaire appelée Holo Cyt-c qui permet le transport d'électrons entre les complexes III et IV de la chaîne respiratoire mitochondriale, le Cyt-c se lie avec APAF-1 et la pro caspase 9 pour conduire à l'activation de celle-ci. La caspase 9 active ensuite la pro caspase 3 qui déclenche toute la cascade d'activation des caspases afin de déroulement de l'apoptose (Yang *et al.*, 2016 ; Khalatbary *et al.*, 2015 ; Gasmi *et al.*, 2017) qui est le marqueur majeure des maladies neurodégénérative comme l'alzheimer et le parkinson (Yang *et al.*, 2016 ; Khalatbary *et al.*, 2015 ; Gasmi *et al.*, 2017).

La quercétine a neutralisé par voie orale le statut neurodégénératifs et améliore la santé des animaux et réduit la peroxydation lipidique (Gasmi *et al.*, 2017) . Cette résultat est similaire à des études antérieures ont rapporté que la quercétine a un effet antioxydant et cytoprotecteur lorsqu'il est utilisé pour prévenir l'apoptose endothéliale causée par les oxydants et le stress oxydatif induit par l'alloxane dans le pancréas de rat (Kebieche *et al.*, 2011 ; Lakroun *et al.*, 2015).

3. Variation de l'activité enzymatique de la GST cytosolique

Les glutathion S- transférases sont des enzymes majeures de détoxification de phase II, principalement dans le cytosol. En plus de leur rôle dans la catalyse de la conjugaison de substrats électrophiles au glutathion (GSH), ces enzymes comportent également une gamme d'autres fonctions. Ils ont des activités de peroxydase et d'isomérase, ils peuvent inhiber la kinase (protégeant ainsi les cellules contre la mort cellulaire induite par H_2O_2) et ils peuvent se lier de manière non catalytique à une large gamme de ligands endogènes et exogènes. Les GST cytosoliques des mammifères ont été particulièrement bien caractérisés et ont été initialement classés en classes Alpha, Mu, Pi et Thêta sur la base d'une combinaison de critères tels que le substrat inhibiteur spécificité, similitudes de structure primaire et tertiaire et identité immunologique (Sheehan *et al.*, 2001). En outre, les GST se lient avec des composés hydrophiles tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques et d'autres xénobiotiques comme les pyrétroïdes (dar *et al.*, 2014).

Nos résultats montrent une diminution hautement significative du taux de GST cytosolique au niveau du striatum par le traitement en deltaméthrine ($p > 0.001$) (figure 27) et une diminution non significative par BF et Mixt dans le striatum (figure 28, 29). Cette diminution peut être une réponse au stress oxydatif (Gasmi *et al.*, 2017).

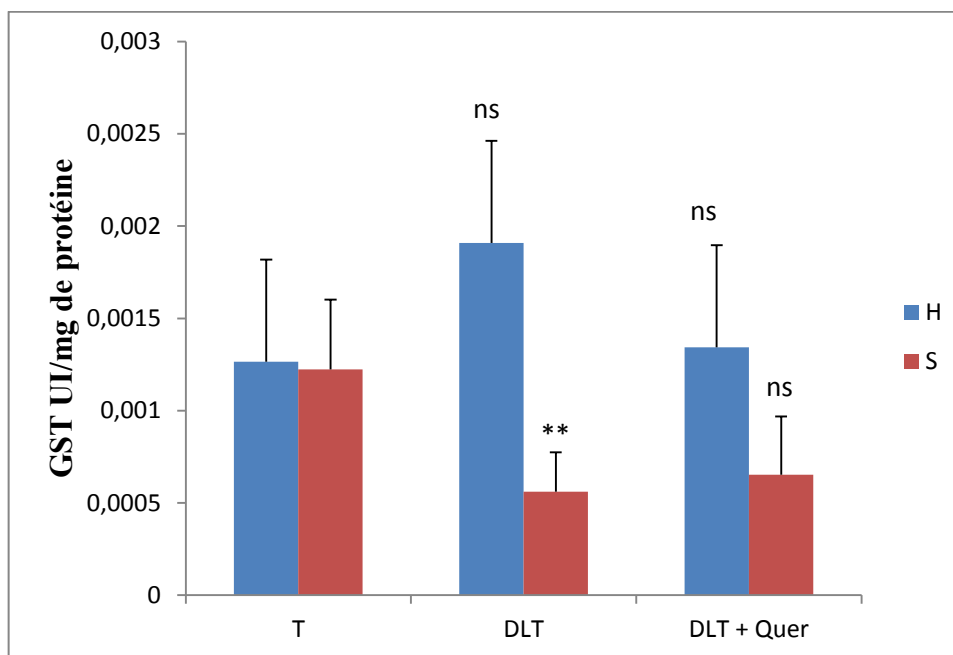


Figure 27. Effets de la DLT associée ou non à la quercétine dans différentes région du cerveau (H : hippocampe, S : striatum, Quer : Quercitine). Les résultats de la variation de l'activation enzymatique cytosolique des GST mesurée en UI /mg, sous l'effet de la DLT associée ou non à la Quer obtenus après une exposition chronique chez le rat.

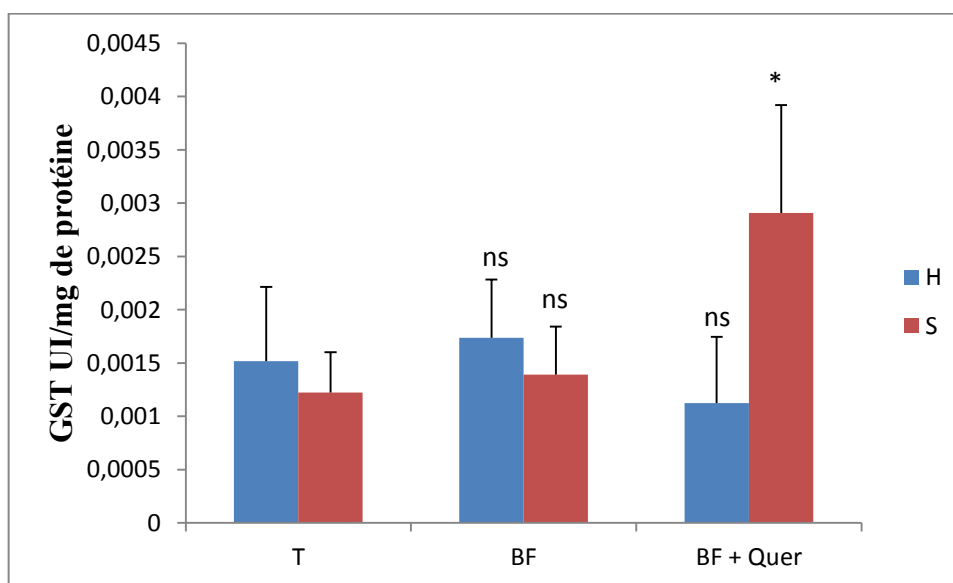


Figure 28-. Effets de la BF associée ou non à la quercétine dans les différentes régions du cerveau (H : hippocampe, S : striatum, Quer : Quercitine). Les résultats de la variation de l'activation enzymatique cytosolique des GST mesurée en UI /mg, sous l'effet de BF associée ou non à la Quer obtenus après une exposition chronique chez le rat.

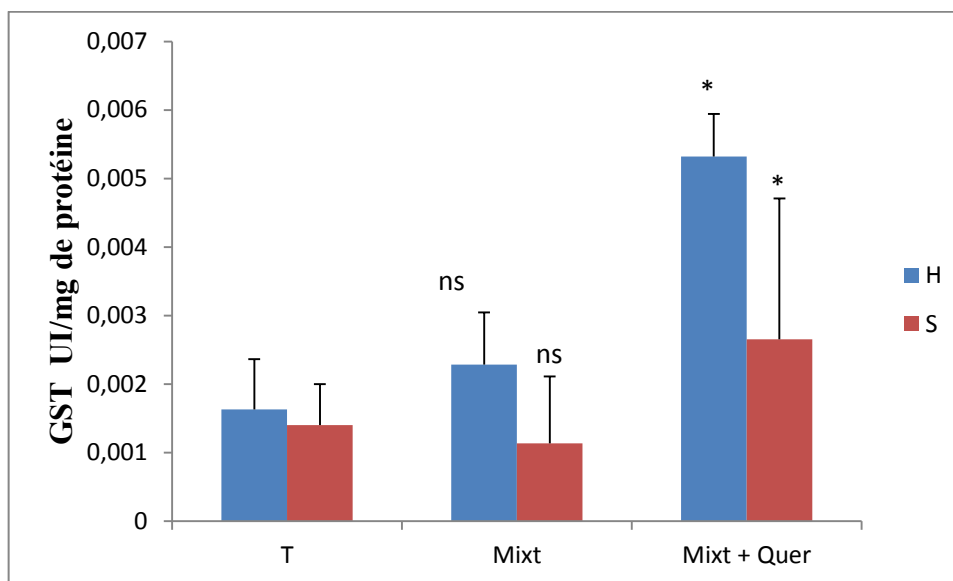


Figure 29. Effets de la Mixt associée ou non à la Quer dans différentes région du cerveau (H : hippocampe, S : striatum, Quer : Quercitine). Les résultats de la variation de l'activation enzymatique cytosolique des GST mesurée en UI /mg, sous l'effet de BF associée ou non à la Quer obtenus après une exposition chronique chez le rat.

La diminution des activités de la GST est conforme les résultats de Kale *et al.*, (1999) qui ont montré un stress oxydatif et une altération des enzymes antioxydants chez les érythrocytes des rats intoxiqués par les pérythrinoides. Cela peut résulter de la production d'O₂ • ou d'une action directe des pesticides sur la synthèse de l'enzyme ont signalé que des groupes alkyle ou aryle halogène contenus dans les molécules d'insecticides pyréthroides peuvent être attaqué par transférase (GST). Ont constaté que la molécule de la GST lie aux insecticides pyréthroidiens dans un mécanisme séquestrant ajoutant à la défense de l'organisme soit comme un passif de la désintoxication, soit comme un facilitant (Youssef *et al.*, 2006). Par conséquent, il est raisonnable de suggérer que la GST fonctionne comme une protéine contribuant à l'action d'autres enzymes impliquées dans la dégradation des pérythrinoides.

Le traitement par BF et DLT et Mixt présente une augmentation non significative ($p > 0.05$) des GST cytosolique dans l'hippocampe (figure 27, 28, 29) et pas dans le striatum (figure 27).

Ces résultats sont l'inverse au l'étude de Dar et collaborateurs, (2014, 2015) qui ont trouvé une diminution significative des GST par le traitement de bifenthrine après 20 et 30 jours, cela peut expliquer par une induction continue des GST. Où la cellule reste toujours en défense en altérant les protéines oxydantes. Cet équilibre ou déséquilibre entre les systèmes oxydants et anti oxydantes est résulte selon plusieurs facteurs différents essentiellement la génétique (ça à dépend le rendement de

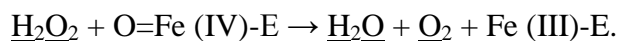
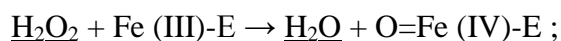
l'expression de gène codant les GST varie à un individu à l'autre), soit l'intervention des capacités métabolique et de l'élimination de ces insecticides. soit par d'autre facteur comme l'âge, sexe, alimentation.... ect (Banerjee *et al.*, 2001).

Les résultats de cette présente étude présente une augmentation significative des taux des GST par le groupe traité par Mixt +Quer dans l'hippocampe et le striatum et par BF + Quer dans le striatum seulement. Une augmentation non significative par le traitement de DLT dans l'hippocampe et le striatum et dans l'hippocampe seulement par le traitement de BF (figure 27,28, 29)

En générale, on peut conclure que la Quer améliore la production de GST cytosolique grâce à son effet anti oxydant (Youssef *et al.*, 2006) .

4. Variation de l'activité enzymatique de la catalase cytosolique :

La catalase est une enzyme qui permet la dismutation du peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) en eau et dioxygène. La liaison oxygène-oxygène du peroxyde d'hydrogène est coupée par l'atome de fer du groupement hème, en créant une molécule d'eau et une liaison fer-oxygène très oxydante. Celle-ci peut oxyder une nouvelle molécule de peroxyde d'hydrogène, donnant du dioxygène. La réaction enzymatique en jeu est l'une des plus rapides connues. Au sein de la cellule, la catalase permet de protéger l'organisme de l'action oxydante et néfaste du peroxyde d'hydrogène (Júnio *et al.*, 2012).



Nos résultats montrent une augmentation très hautement significative de CAT cytosolique par le traitement de la bifenthrine dans l'hippocampe et hautement significative dans le striatum, une augmentation significative de CAT cytosolique dans l'hippocampe par le traitement de DLT. Une diminution significative de CAT cytosolique après traitement par Mixt dans l'hippocampe et non significative dans le striatum par le traitement de DLT (figure 30, 31, 32).

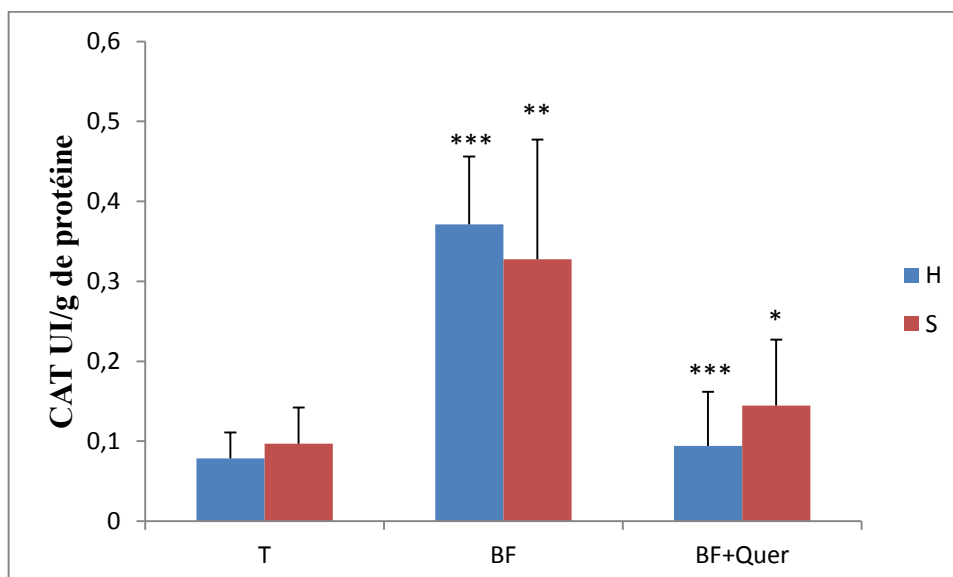


Figure 30. Effets de la BF associée ou non à la quercétine dans différentes région du cerveau (H : hippocampe, S : striatum, Quer : Quercitine). Les résultats de la variation de l'activation enzymatique cytosolique de catalase mesurée en UI /mg, sous l'effet de BF associée ou non à la Quer obtenus après une exposition chronique chez le rat.

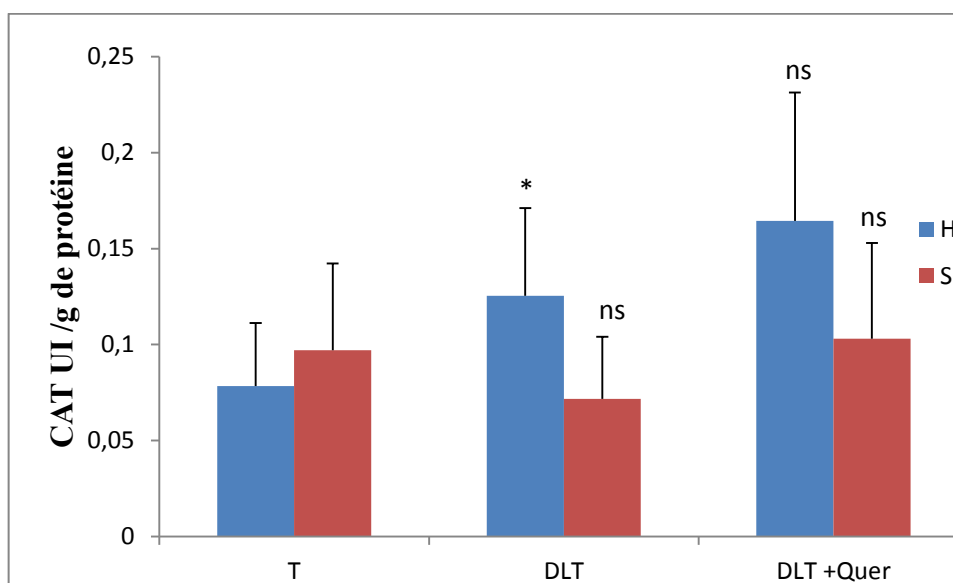


Figure 31. Effets de DLT associée ou non à la quercétine dans différentes région du cerveau (H : hippocampe, S : striatum, Quer : Quercitine). Les résultats de la variation de l'activation enzymatique cytosolique de CAT mesurée en UI /mg, sous l'effet de DLT associée ou non à la Quer obtenus après une exposition chronique chez le rat.

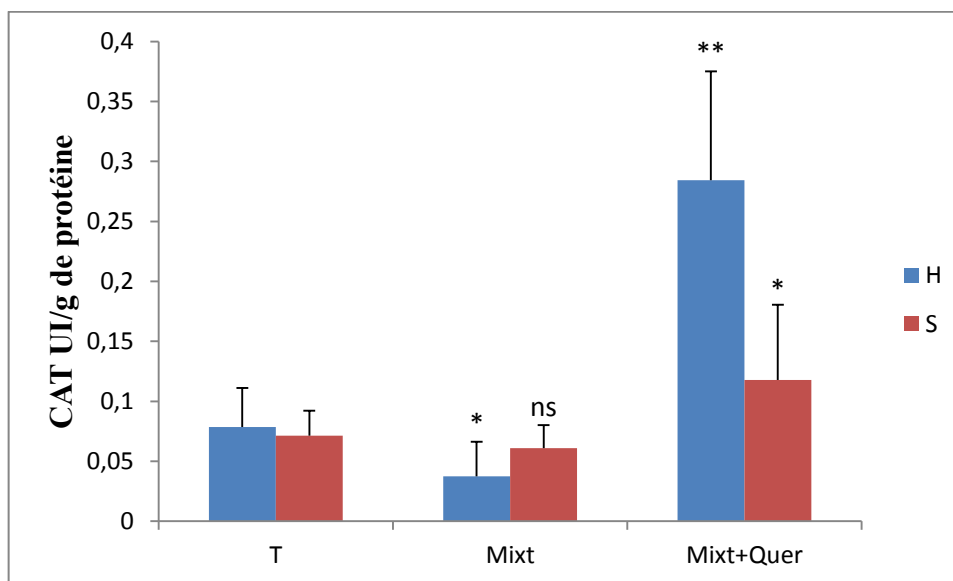


Figure 32. Effets de Mixt associée ou non à la quercétine dans différentes région du cerveau (H : hippocampe, S : striatum, Quer : Quercitine). *Les résultats de la variation de l'activation enzymatique cytosolique de CAT mesurée en UI/mg, sous l'effet de Mixt associée ou non à la Quer obtenus après une exposition chronique chez le rat.*

Comme on a dit précédemment dans le GST que la cellule reste toujours en état de défense, en altérant les protéines oxydantes. Cet équilibre ou déséquilibre entre les systèmes oxydants et anti oxydants est le résultat de plusieurs facteurs essentiellement génétique (le rendement de l'expression de gène codant la CAT varie d'un individu à un autre), soit l'intervention des capacités métabolique et de l'élimination de ces insecticides, soit par d'autre facteurs comme l'âge, sexe, alimentation.... ect (Banerjee *et al.*, 2001).

Tandis que la diminution de la catalase cytosolique par le traitement de mixture, ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans d'autres travaux de recherche in vivo avec une dose de 5.8 mg/kg qui ont montré une inhibition directe de cette enzyme par les pérythrinoides ou encore cette diminution peut être justifiée par la production excessive et l'accumulation des ROS dans la mitochondrie, (Dar *et al.*, 2013). Par ailleurs, des étude antérieures ont montré que la réduction de l'activité de la SOD due à la diminution de l'activité de la CAT (Hassan *et al.*, 2012). D'autres recherche ont montré que lors d'un stress oxydatif il y a apparition d'une carence en NADPH et que ce dernier soit nécessaire pour l'activation de la CAT, et on observe une réduction dans l'activité de la CAT (Vijayavel *et al.*, 2007).

5. Variation de taux de GSH

Le GSH est le substrat de nombreux enzymes, c'est un tri-peptide agissant comme un facteur important pour la protection et la défense cellulaire contre les ROS, en effet, ce tri-peptide pourrait jouer un rôle antioxydant et préventif contre les dommages causés par les ROS, sachant que la plupart des cellules du corps humain sont capables de le synthétiser (Emre *et al.*, 2007).

Nos résultats montrent une diminution non significative ($p > 0.05$) du GSH cytosolique par le traitement de BF dans l'hippocampe et le striatum et une diminution significative ($p < 0.05$) par le traitement de DLT et la mixture dans l'hippocampe et hautement significative dans le striatum (figure 33.34.35).

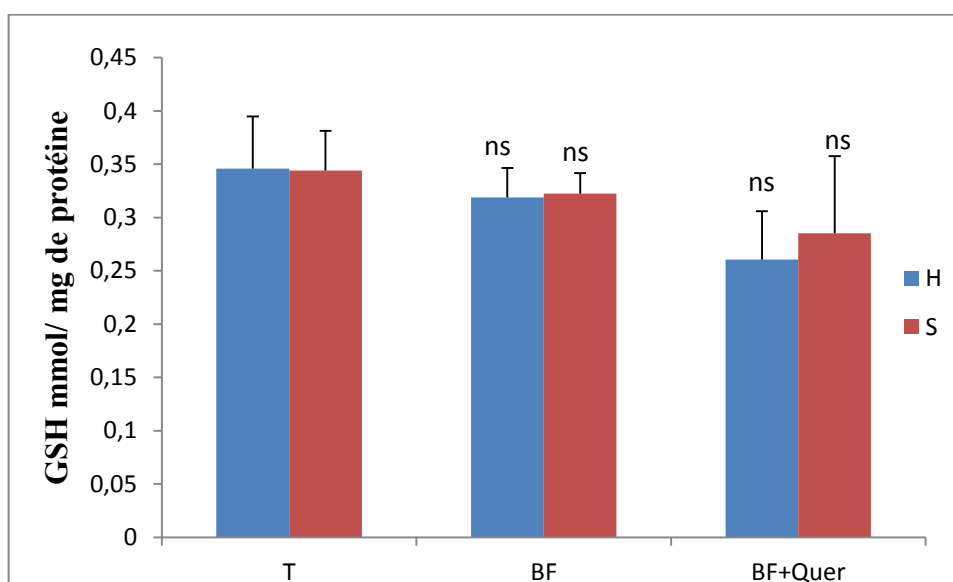


Figure 33. Effets de BF associée ou non à la Quer dans différentes régions du cerveau (H : hippocampe, S : striatum, Quer : Quercitine). Les résultats de la variation de GSH cytosolique mesurés en mmol/g sous l'effet de BF associée ou non à la Quer obtenus après une exposition chronique chez le rat.

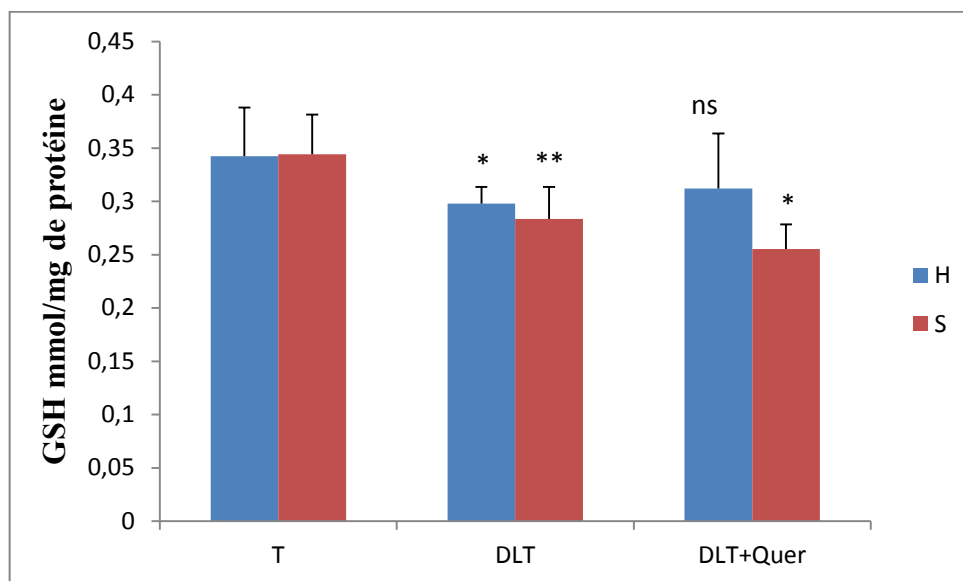


Figure 34. Effets de DLT associée ou non à la Quer dans différentes région du cerveau (H : hippocampe, S : striatum, Quer : Quercitine). Les résultats de la *variation de GSH cytosolique mesuré en mmol/g sous l'effet de DLT associée ou non à la Quer obtenue après une exposition chronique chez le rat.*

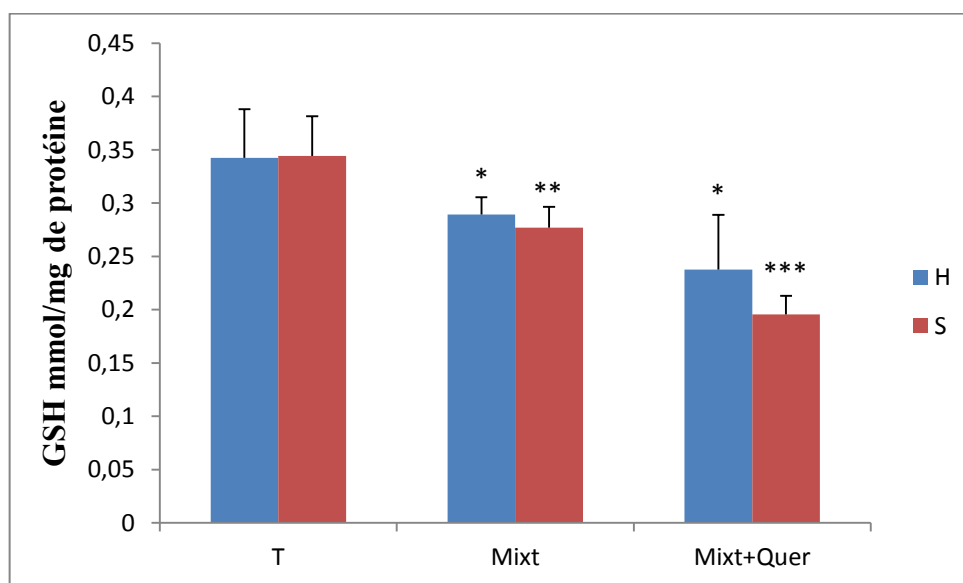


Figure 35 : Effets de Mixt associée ou non à la Quer dans différentes région du cerveau (H : hippocampe, S : striatum, Quer : Quercitine). Les résultats de la *variation de GSH cytosolique mesuré en mmol/g sous l'effet de Mixt associée ou non à la Quer obtenue après une exposition chronique chez le rat.*

Ces résultats sont en accord avec des études comme l'étude de Gasmi *et al.* (2017), Henine *et al.* (2016), Rouabhi *et al.* (2009). par le traitement de DLT et de pérythrine en générale, cela s'explique par l'utilisation accrue de GSH pour éliminer les ROS. Ils ont constaté que DLT influe

sur le métabolisme général par l'inhibition de plusieurs réactions énergétiques ou de structure, telles que les réactions du β -oxydation (Aoun et Tiranti., 2016), de la glycolyse et du Kreps (Gasmi *et al.*, 2017). En outre Le GSH est susceptible d'être impliqué dans les systèmes de détoxification des pesticides administrés à dose élevée et aussi jouer un rôle de scavanger anti ROS, ce qui cause sa réduction accrue dans le cytosol, (Mani *et al.*, 2014).

6. Variation de taux de MDA

D'après les figures 1 et 2 et 3 on observe une augmentation de l'MDA dans la région de l'hippocampe, hautement significative ($p < 0.01$) après le traitement par la bifenthrine et non significative ($p > 0.05$) après le traitement par DLT et la Mixt comparativement au groupe témoin. Dans la région de striatum il y a une augmentation de MDA, très hautement significative ($p < 0.001$) après le traitement par la BF et la mixture et hautement significative après le traitement par la DLT par rapport au groupe témoin. Alors qu'après le traitement par la quercétine on observe une diminution des niveaux de MDA dans les trois cas (Figures 36.37.38).

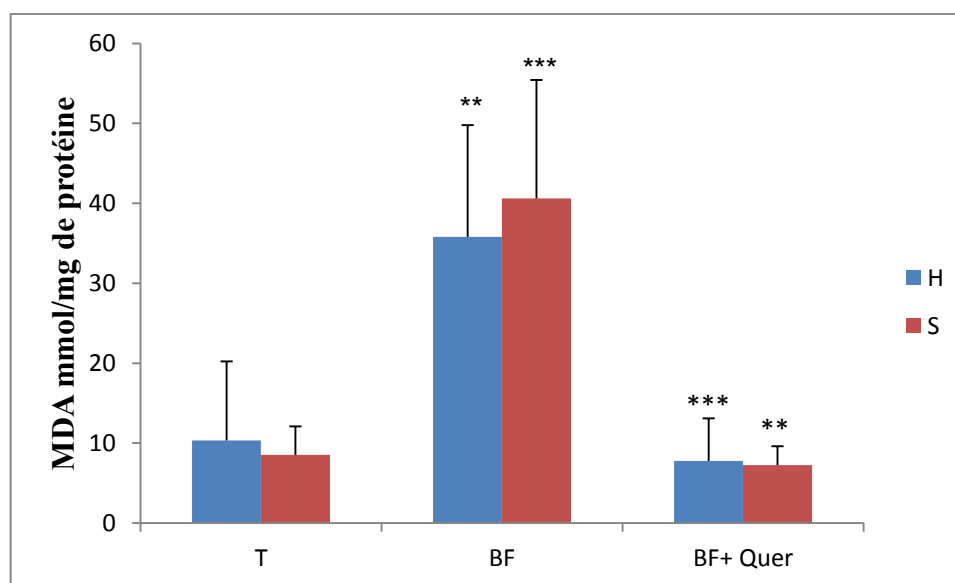


Figure 36. Effets de BF associée ou non à la Quer dans différentes régions du cerveau (H : hippocampe, S : striatum, Quer : Quercétine). Les résultats de la variation de MDA cytosolique mesurés en mmol/g sous l'effet de BF associée ou non à la Quer obtenus après une exposition chronique chez le rat.

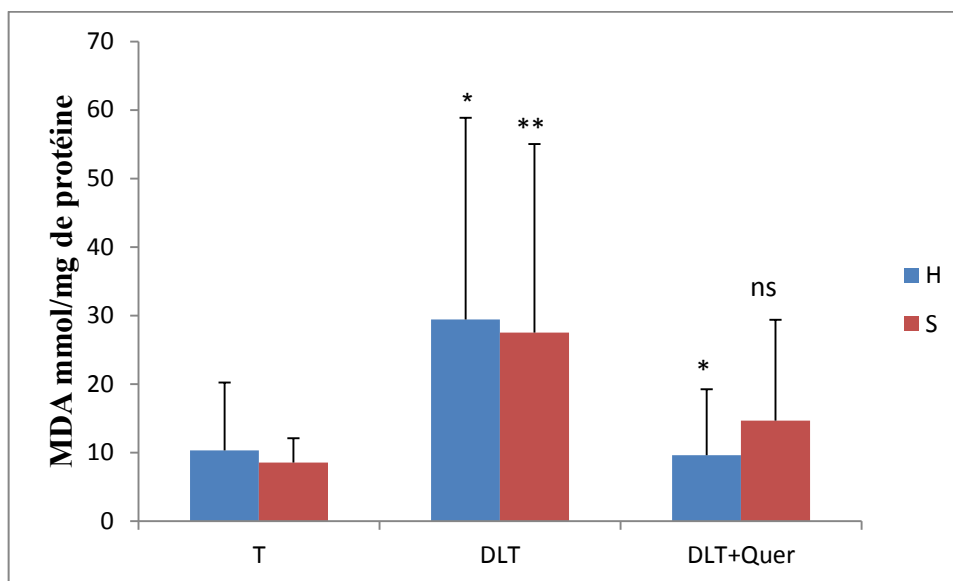


Figure 37 : Effets de DLT associée ou non à la Quer dans différentes région du cerveau (H : hippocampe, S : striatum, Quer : Quercitine). Les résultats de la *variation de MDA cytosolique mesuré en mmol/g sous l'effet de DLT associant ou non à la Quer obtenue après une exposition chronique chez le rat.*

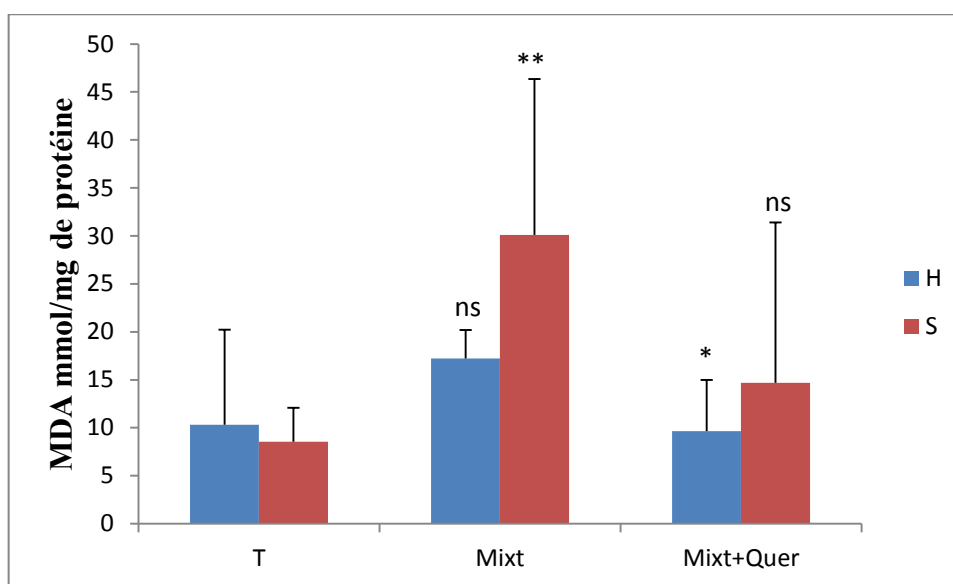


Figure 38 : Effets de Mixt associée ou non à la Quer dans différentes région du cerveau (H : hippocampe, S : striatum, Quer : Quercitine). Les résultats de la *variation de MDA cytosolique mesuré en mmol/g sous l'effet de Mixt associant ou non à la Quer obtenue après une exposition chronique chez le rat.*

Il est bien connu que le MDA est un produit terminal de peroxydation lipidique, donc le contenu de MDA peut être utilisé pour estimer l'étendue de la peroxydation lipidique. Ceci peut refléter indirectement le degré auquel les membranes lipidiques des cellules sont attaquées par les radicaux libres (Dar *et al.*, 2014).

Selon les résultats obtenue en conclu que le MDA est élevé chez les rat après le traitement par la BF et DLT qui est compatible avec d'autre travaux de (Dar *et al.*, 2015 ; charma *et al.*, 2015). Dans cette étude l'augmentation de MDA après exposition chronique par la BF peut s'expliquer par une perturbation d'équilibre entre le système oxydant et le système antioxydant dans les systèmes biologiques (Dar *et al.*, 2013).

Le niveau de LPO dans le cerveau a augmenté significativement. L'exposition à la deltaméthrine augmente l'oxydant d'une réaction d'oxydation irréversible qui conduit à une modification chimique des processus. Le radical hydroxyle peut initier des lipides par oxydation qui est une chaîne de radical libre conduisant à la perte de la structure membranaire et la fonction. L'augmentation de LPO et la génération de ROS peut réduire la viabilité cellulaire (Charma *et al.*, 2015).

Les résultats de cette étude ont montré aussi que l'administration de la mixture provoque une peroxydation lipidique accrue, le taux élevé de MDA marqué dans ce groupe revient à la production excessive des ROS induit par ce mélange de pesticides, ces résultats sont compatible avec les travaux de starr et collaborateurs (2014). Cette étude a montré également que l'activité antioxydante de la quer administré en association avec la mixt a diminué l'effet pro-oxydant de ces deux pesticides.

Après l'évaluation de ces paramètres de stress au cours de cette étude on peut dire que les pérythrinoides peuvent provoquer une intoxication sévère après exposition chronique de celle-ci. Cette exposition conduit à une accumulation des pyréthrinoides essentiellement dans le cerveau grâce à sa lipophilie (Shen *et al.*, 2017). Cette accumulation entraine la production des ROS et le déclenchement d'un stress oxydatif (Gasmi *et al.*, 2017). Le stress provoque soit l'induction des système anti oxydants enzymatiques ou non soit l'altération de ces systèmes, ça par rapport à la réponse de l'individu (Dar *et al.*, 2013 ; Gasmi *et al.*, 2017).

Malheureusement la Quer peut présenter des effets anti oxydants qui protège les cellules contre plusieurs mécanismes moléculaires néfastes pour l'organisme comme l'apoptose qui est le responsable à des maladies neurodégénératives tel que l'alzheimer et le parkinson (Gasmi *et al.*, 2017 ; Yang *et al.*, 2016 ; Khalatbary *et al.*, 2015 ; Kebieche *et al.*, 2011 ; Lakroun *et al.*, 2015).

Conclusion

A l'issue de ce travail, nous pouvons conclure que l'exposition chronique à des faibles doses de la BF et de la DLT et les deux en mixture, a un effet toxique sur les différentes régions du cerveau, tandis que la quercétine est une molécule antioxydante, qui possède un potentiel antioxydant et cytoprotecteur afin de prévenir les effets délétères de ces pyréthriinoïdes.

Après 3 mois du traitement des rats avec des doses différentes des pesticides les antioxydants enzymatique et non enzymatique GSH ,GST ,CAT ont été augmentés dans les deux régions du cerveau : hippocampe , striatum par rapport aux rats témoins, ce qui reflètent un dysfonctionnement dans les systèmes antioxydants due a l'effet toxique chronique qui exercent ces pesticides. De plus, l'effet néfaste de ces pesticides sur le gonflement mitochondrial qui se manifeste par la diminution de la DO dans les rats traités par rapport au groupe témoin ; ainsi, l'augmentation du taux de MDA mitochondrial au niveau de ces deux régions du cerveau indique que les deux pyréthriinoïdes étudiés soit en solo soit en mixture ont des propriétés et un effet pro-oxydant.

La présente étude suggère que les pyréthriinoïdes induisent une neuro-toxicité (l'alzheimer, le parkinson,...) en espérons que cette suggestion reste le but des autres recherches dans les années prochaines.

Afin de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la toxicité de ces pyréthriinoïdes étudié, ces résultats mériteraient d'être approfondis et des travaux complémentaires seraient nécessaires tels que :

1. Elargir la durée de l'expérimentation.
2. Etudier l'effet des pyréthriinoïdes sur le réticulum endoplasmique.
3. Etudier l'effet de la quercétine dans des doses très élevée.
4. Approfondir l'effet génotoxique de ces pyréthriinoïdes.
5. Etudier le dosage des neuromédiateurs tel que la dopamine.

- Abdolah M.** (2011). Protective role of L-ascorbic acid in oxidative stress induced by repeated oral administration of bifenthrin in wistar rats. *Journal of Animal Research*, 6(1), 39.
- Abreu-Villaça, Y., & Levin, E. D.** (2016). Developmental neurotoxicity of succeeding generations of insecticides. *Environment international*.
- Akerboom, T. P., & Sies, H.** (1981). [48] Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods in enzymology*, 77, 373-382.
- Alam, G., Edler, M., Burchfield, S., & Richardson, J. R.** (2017). Single low doses of MPTP decrease tyrosine hydroxylase expression in the absence of overt neuron loss. *Neurotoxicology*, 60, 99-106.
- Alam, G., Edler, M., Burchfield, S., & Richardson, J. R.** (2017). Single low doses of MPTP decrease tyrosine hydroxylase expression in the absence of overt neuron loss. *Neurotoxicology*, 60, 99-106.
- Ambolet-Camoit, A., Kim, M. J., Leblanc, A., & Aggerbeck, M.** (2012). Les polluants organiques persistants: implication dans l'obésité et le syndrome métabolique. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 47(4), 183-192.
- Anadon, A., Martinez-Larranaga, M. R., Fernandez-Cruz, M. L., Diaz, M. J., Fernandez, M. C., & Martinez, M. A.** (1996). Toxicokinetics of deltamethrin and its 4'-HO-metabolite in the rat. *Toxicology and applied pharmacology*, 141(1), 8-16.
- Antunes, M., & Biala, G.** (2012). The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. *Cognitive processing*, 13(2), 93-110.
- Arora, D., Siddiqui, M. H., Sharma, P. K., & Shukla, Y.** (2016). Deltamethrin induced RIPK3-mediated caspase-independent non-apoptotic cell death in rat primary hepatocytes. *Biochemical and biophysical research communications*, 479(2), 217-223.
- Baldi, I., Cordier, S., Coumoul, X., Elbaz, A., Gamet-Payrastre, L., Le Bailly, P., ... & Van Maele-Fabry, G.** (2013). Pesticides: effets sur la santé. *INSERM, Institut national de la santé et de la recherche médicale, Paris*.
- Banerjee, B. D., Seth, V., & Ahmed, R. S.** (2001). Pesticide-induced oxidative stress: perspective and trends. *Reviews on environmental health*, 16(1), 1-40.
- 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.

- Cillard, J., & Cillard, P.** (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Oleagineux, corps gras, lipides*, 13(1), 24-29.
- Claiborne, A.** (1985). Catalase activity In: Greenwald RA (ed) Handbook of methods for oxygen free radical research.
- Costa, L. G., Garrick, J. M., Roquè, P. J., & Pellacani, C.** (2016). Mechanisms of neuroprotection by quercetin: counteracting oxidative stress and more. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.
- Costa, M., Brookes, S. J., & Hennig, G. W.** (2000). Anatomy and physiology of the enteric nervous system. *Gut*, 47(suppl 4), iv15-iv19.
- Crompton, M.** (1999). The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *Biochemical Journal*, 341(2), 233-249.
- Cycoń, M., & Piotrowska-Seget, Z.** (2016). Pyrethroid-Degrading Microorganisms and Their Potential for the Bioremediation of Contaminated Soils: A Review. *Frontiers in microbiology*, 7.
- Da Silva, A. M. F., Pavesi, T., Rosa, A. C. S., dos Santos, T. P., de Medeiros Tabalipa, M., Lemes, V. R. R., ... & de Novaes Sarcinelli, P.** (2016). Organochlorines and polychlorinated biphenyl environmental pollution in south coast of Rio De Janeiro state. *Marine pollution bulletin*, 108(1), 325-331.
- Dar, M. A., Khan, A. M., Raina, R., Verma, P. K., & Sultana, M.** (2013). Effect of repeated oral administration of bifenthrin on lipid peroxidation and anti-oxidant parameters in Wistar rats. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 91(1), 125.
- Dar, M. A., Raina, R., Mir, A. H., Sultana, M., & Pankaj, N. K.** (2015). Effect of dermal application of bifenthrin on acetylcholinesterase and oxidative stress indices in rat blood, lung and kidney. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 2(85), 431-435.
- De Marchi, E., Bonora, M., Giorgi, C., & Pinton, P.** (2014). The mitochondrial permeability transition pore is a dispensable element for mitochondrial calcium efflux. *Cell Calcium*, 56(1), 1-13.
- DeGroot, B. C., & Brander, S. M.** (2014). The role of P450 metabolism in the estrogenic activity of bifenthrin in fish. *Aquatic toxicology*, 156, 17-20.

- Devedeix N.** (2011). *Sémiologie des affections du système nerveux*. Masson et cie , 235(1), 6213-6229.
- Devun, F.** (2008). *Régulation du Pore de Transition de Perméabilité mitochondrial et toxicité induite par les analogues de l'ubiquinone dans les hépatocytes cancéreux* (Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).
- Ding, Y., White, C. A., Muralidhara, S., Bruckner, J. V., & Bartlett, M. G.** (2004). Determination of deltamethrin and its metabolite 3-phenoxybenzoic acid in male rat plasma by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 810(2), 221-227.
- Divac, I., FONNUM, F., & STORM-MATHISEN, J. O. N.** (1977). High affinity uptake of glutamate in terminals of corticostriatal axons. *Nature*, 266(5600), 377-378.
- Dong M.** (2006). Hippocampal slow oscillation: a novel EEG state and its coordination with ongoing neocortical activity. *Journal of Neuroscience*, 26(23), 6213-6229.
- Elwan, M. A., Richardson, J. R., Guillot, T. S., Caudle, W. M., & Miller, G. W.** (2006). Pyrethroid pesticide-induced alterations in dopamine transporter function. *Toxicology and applied pharmacology*, 211(3), 188-197.
- Ennaceur, A., & Meliani, K.** (1992). A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. III. Spatial vs. non-spatial working memory. *Behavioural brain research*, 51(1), 83-92.
- Farhi S.** 2015. The neurotoxicity study of cadmium on oxidative stress parametres and the protective effect of sélénium on this toxicity in rabbitis.p55 Rf : 28 06/15.
- Fathy, S. M.** (2015). Locus coeruleus: A brain region exhibiting neuronal alterations in Parkinson's disease rat model. *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 70, 53-57.
- Fethi, B. K., Issam, C., Ali, M. M., Fadhel, N. M., Hassen, B. C., Noureddine, H. A., & Zine, M.** (2014). Effects of sub-chronic exposure to coinjection of Deltamethrin (DM) and MethylLinoleate (ML) on gonads, sex Hormones and lipoperoxidation in pubescent female rats. *Comparative Clinical Pathology*, 23(3), 695.
- Galal, M. K., Khalaf, A. A. A., Ogaly, H. A., & Ibrahim, M. A.** (2014). Vitamin E attenuates neurotoxicity induced by deltamethrin in rats. *BMC complementary and alternative medicine*, 14(1), 458.

- Gasmi, S., Rouabhi, R., Kebieche, M., Boussekine, S., Salmi, A., Toualbia, N., ... & Djabri, B.** (2017). Effects of Deltamethrin on striatum and hippocampus mitochondrial integrity and the protective role of Quercetin in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-18.
- Godin, S. J.** (2007). Species differences in the metabolism of pyrethroid pesticides: Potential implications for human health risk assessment. *Dissertation Abstracts International*, 68(11).
- Govaerts, L., Schoenen, J., & Bouhy, D.** (2007). Pathogénie de la maladie d'Alzheimer: les mécanismes moléculaires et cellulaires. *Revue Médicale de Liège*, 62(4), 209-16.
- 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.
- He, B., & Soderlund, D. M.** (2016). Effects of the $\beta 1$ auxiliary subunit on modification of Rat Na v 1.6 sodium channels expressed in HEK293 cells by the pyrethroid insecticides tefluthrin and deltamethrin. *Toxicology and applied pharmacology*, 291, 58-69.
- Heimer, L., Zaborszky, L., Zahm, D. S., & Alheid, G. F.** (1987). The ventral striatopallidothalamic projection: I. The striatopallidal link originating in the striatal parts of the olfactory tubercle. *Journal of Comparative Neurology*, 255(4), 571-591.
- Hossain, M. M., & Richardson, J. R.** (2011). Mechanism of pyrethroid pesticide-induced apoptosis: role of Calpain and the ER stress pathway. *Toxicological Sciences*, 122(2), 512-525.
- Hossain, M. M., DiCicco-Bloom, E., & Richardson, J. R.** (2014). Hippocampal ER stress and learning deficits following repeated pyrethroid exposure. *Toxicological Sciences*, 143(1), 220-228.
- Hubin, E., Vanschoenwinkel, B., Broersen, K., De Deyn, P. P., Koedam, N., van Nuland, N. A., & Pauwels, K.** (2016). Could ecosystem management provide a new framework for Alzheimer's disease?. *Alzheimer's & dementia*, 12(1), 65-74.
- Kebièche, M., Lakroun, Z., Mraïhi, Z., & Soulimani, R.** (2011). Effet antidiabéto-gène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens* L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique. *Phytothérapie*, 9(5), 274-282.
- Khalatbary, A. R., Ghaffari, E., & Mohammadnegad, B.** (2015). Protective Role of oleuropein against acute deltamethrin-induced neurotoxicity in Rat Brain. *Iranian biomedical journal*, 19(4), 247.

- Kim, K. B., Anand, S. S., Kim, H. J., White, C. A., & Bruckner, J. V. (2007).** Toxicokinetics and tissue distribution of deltamethrin in adult Sprague–Dawley rats. *Toxicological Sciences*, *101*(2), 197-205.
- Kim, K. H., Kabir, E., & Jahan, S. A. (2017).** Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of The Total Environment*, *575*, 525-535.
- Kumar, A., & Singh, A. (2015).** A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. *Pharmacological Reports*, *67*(2), 195-203.
- Kumar, A., Sasmal, D., & Sharma, N. (2015).** An insight into deltamethrin induced apoptotic calcium, p53 and oxidative stress signalling pathways. *Toxicol Environ Health Sci*, *7*, 25-34.
- Kung, T. S., Richardson, J. R., Cooper, K. R., & White, L. A. (2015).** Developmental deltamethrin exposure causes persistent changes in dopaminergic gene expression, neurochemistry, and locomotor activity in zebrafish. *Toxicological Sciences*, *146*(2), 235-243
- Lablanche, S. C. (2009).** *Rôle du pore de transition de perméabilité mitochondriale dans l'apoptose des cellules bêta pancréatiques* (Doctoral dissertation).
- Lakroun, Z., Kebieche, M., Lahouel, A., Zama, D., Desor, F., & Soulimani, R. (2015).** Oxidative stress and brain mitochondria swelling induced by endosulfan and protective role of quercetin in rat. *Environmental science and pollution research international*, *22*(10), 7776.
- Lazarov, O., & Hollands, C. (2016).** Hippocampal neurogenesis: learning to remember. *Progress in neurobiology*, *138*, 1-18.
- Lei, W., Wang, D. D., Dou, T. Y., Hou, J., Feng, L., Yin, H., ... & Yang, L. (2017).** Assessment of the inhibitory effects of pyrethroids against human carboxylesterases. *Toxicology and applied pharmacology*, *321*, 48-56.
- Li, H., Cheng, F., Wei, Y., Lydy, M. J., & You, J. (2017).** Global occurrence of pyrethroid insecticides in sediment and the associated toxicological effects on benthic invertebrates: An overview. *Journal of hazardous materials*, *324*, 258-271.
- Li, L., Yang, D., Song, Y., Shi, Y., Huang, B., Yan, J., & Dong, X. (2017).** Effects of bifenthrin exposure in soil on whole-organism endpoints and biomarkers of earthworm *Eisenia fetida*. *Chemosphere*, *168*, 41-48.
- Liu, G., Ma, Q. I. A. N. G., & Shi, N. I. A. N. (2006).** Tyrosine hydroxylase as a target for deltamethrin in the nigrostriatal dopaminergic pathway. *Biomedical and Environmental Sciences*, *19*(1), 27.

- Liu, H., & Li, J. (2015).** Enantioselective apoptosis induced by individual isomers of bifenthrin in Hep G2 cells. *Environmental toxicology and pharmacology*, 39(2), 810-814.
- Madore, C. (2013).** *Plasticité morphofonctionnelle du système de l'immunité innée cérébrale: modulation par l'inflammation et la nutrition* (Doctoral dissertation, Bordeaux 2).
- Magalingam, K. B., Radhakrishnan, A. K., & Haleagrahara, N. (2015).** Protective mechanisms of flavonoids in Parkinson's disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2015.
- Mani, V. M., & Sadiq, A. M. M. (2014).** Naringin modulates the impairment of memory, anxiety, locomotor, and emotionality behaviors in rats exposed to deltamethrin; a possible mechanism association with oxidative stress, acetylcholinesterase and ATPase. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 4(4), 527-533.
- Marieb, N. E., & Mallat, J. (2005).** Anatomie lidského tela (Anatomy of the human body).
- Miller, L. A., Lai, R., & Munoz, D. G. (1998).** Contributions of the entorhinal cortex, amygdala and hippocampus to human memory. *Neuropsychologia*, 36(11), 1247-1256.
- Moon, Y. J., Wang, L., DiCenzo, R., & Morris, M. E. (2008).** Quercetin pharmacokinetics in humans. *Biopharmaceutics & drug disposition*, 29(4), 205-217.
- Mufson, E. J., Mahady, L., Waters, D., Counts, S. E., Perez, S. E., DeKosky, S. T., ... & Binder, L. I. (2015).** Hippocampal plasticity during the progression of Alzheimer's disease. *Neuroscience*, 309, 51-67.
- Mukherjee, I., Singh, R., & Govil, J. N. (2010).** Risk assessment of a synthetic pyrethroid, bifenthrin on pulses. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 84(3), 294-300.
- Nguyen, M. A., Staubach, P., Wolfram, S., & Langguth, P. (2015).** The Influence of Single-Dose and Short-Term Administration of Quercetin on the Pharmacokinetics of Midazolam in Humans. *Journal of pharmaceutical sciences*, 104(9), 3199-3207.
- Nieradko-Iwanicka, B., & Borzęcki, A. (2015).** Subacute poisoning of mice with deltamethrin produces memory impairment, reduced locomotor activity, liver damage and changes in blood morphology in the mechanism of oxidative stress. *Pharmacological Reports*, 67(3), 535-541.
- Nieradko-Iwanicka, B., Borzecki, A., & Jodłowska-Jedrych, B. (2015).** Effect of subacute poisoning with bifenthrin on locomotor activity, memory retention, haematological, biochemical and histopathological parameters in mice. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 66(1).
- Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979).** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry*, 95(2), 351-358.

- Pan, Z. H. U., Sai, F. A. N., Hong, Z. J., Hong, M. I. A. O., LI, J. G., ZHANG, G. W., & WU, Y. N.** (2014). Application of gas chromatography-mass spectrometry in analyzing pharmacokinetics and distribution of deltamethrin in miniature pig tissues. *Biomedical and Environmental Sciences*, 27(6), 426-435.
- Parent, A.** (1990). Extrinsic connections of the basal ganglia. *Trends in neurosciences*, 13(7), 254-258.
- Parkin, A. J.** (1996). Human memory: the hippocampus is the key. *Current Biology*, 6(12), 1583-1585.
- Priprem, A., Watanatorn, J., Sutthiparinyanont, S., Phachonpai, W., & Muchimapura, S.** (2008). Anxiety and cognitive effects of quercetin liposomes in rats. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 4(1), 70-78
- Rehman, H., Ali, M., Atif, F., Kaur, M., Bhatia, K., & Raisuddin, S.** (2006). The modulatory effect of deltamethrin on antioxidants in mice. *Clinica Chimica Acta*, 369(1), 61-65.
- Rehman, H., Aziz, A. T., Saggi, S., Abbas, Z. K., Mohan, A., & Ansari, A. A.** (2014). Systematic review on pyrethroid toxicity with special reference to deltamethrin. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 2(6), 60-70.
- Ren, Q., Zhang, T., Li, S., Ren, Z., Yang, M., Pan, H., ... & Chon, T. S.** (2016). Integrative Characterization of Toxic Response of Zebra Fish (*Danio rerio*) to Deltamethrin Based on AChE Activity and Behavior Strength. *BioMed research international*, 2016.
- Rivera F. and Vaamonde L.** 2015. Quercetin in Brain Diseases: Potential and Limits. *Neurochemistry International*, 89:140-148.
- Saladin, K. S., & Miller, L.** (1998). *Anatomy & physiology*. New York (NY): WCB/McGraw-Hill.
- Scollon, E. J., Starr, J. M., Crofton, K. M., Wolansky, M. J., DeVito, M. J., & Hughes, M. F.** (2011). Correlation of tissue concentrations of the pyrethroid bifenthrin with neurotoxicity in the rat. *Toxicology*, 290(1), 1-6.
- Sharma, P.** 2015. Toxic Effects of Deltamethrin Doses on Antioxidative Defence Mechanism and Acetylcholinesterase Activity in Rat brain. *Pharmacology and Toxicology*, 03(10), 2015,19-25.
- Shen, P., Hsieh, T. H., Yue, Y., Sun, Q., Clark, J. M., & Park, Y.** (2017). Deltamethrin increases the fat accumulation in 3T3-L1 adipocytes and *Caenorhabditis elegans*. *Food and Chemical Toxicology*, 101, 149-156.

- Shivanoor, S. M., & David, M.** (2016). Reversal of deltamethrin-induced oxidative damage in rat neural tissues by turmeric-diet: Fourier transform-infrared and biochemical investigation. *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 77, 56-68.
- Starr, J. M., Graham, S. E., Ross, D. G., Tornero-Velez, R., Scollon, E. J., DeVito, M. J., ... & Hughes, M. F.** (2014). Environmentally relevant mixing ratios in cumulative assessments: a study of the kinetics of pyrethroids and their ester cleavage metabolites in blood and brain; and the effect of a pyrethroid mixture on the motor activity of rats. *Toxicology*, 320, 15-24.
- Suganthy, N., Devi, K. P., Nabavi, S. F., Braidy, N., & Nabavi, S. M.** (2016). Bioactive effects of quercetin in the central nervous system: Focusing on the mechanisms of actions. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 892-908.
- Tewary, D. K., Kumar, V., Ravindranath, S. D., & Shanker, A.** (2005). Dissipation behavior of bifenthrin residues in tea and its brew. *Food Control*, 16(3), 231-237.
- The gut as a barrier to drug absorption: combined role of cytochrome P450 3A and P-glycoprotein.
- Touchon, J., & Portet, F.** (2004). *La maladie d'Alzheimer*. Elsevier Masson.
- Trdan, S. (Ed.)**. (2013). *Insecticides-development of safer and more effective technologies*. InTech.
- Van Der Kooy, D.** (1979). The organization of the thalamic, nigral and raphe cells projecting to the medial vs lateral caudate-putamen in rat. A fluorescent retrograde double labeling study. *Brain research*, 169(2), 381-387.
- Vandelac, L., & Bacon, M. H.** (1999). Perturbateurs endocriniens et polluants organiques persistants: inquiétante érosion de la santé, de la fertilité et des capacités intellectuelles. *Ruptures, Revue interdisciplinaire en santé*, 6(2), 237-267.
- Velázquez-Paniagua, M., Vázquez-Álvarez, A. M., Valverde-Aguilar, G., & Vergara-Aragón, P.** (2016). Current treatments in Parkinson's including the proposal of an innovative dopamine microimplant. *Revista Médica del Hospital General de México*, 79(2), 79-87.
- White, J. C., Smithwick, R. H., & Simeone, F. A.** (1952). *The autonomic nervous system: anatomy, physiology, and surgical application*. Macmillan.
- Wolansky, T., Clement, E. A., Peters, S. R., Palczak, M. A., & Dickson, C. T.** (2006). Hippocampal slow oscillation: a novel EEG state and its coordination with ongoing neocortical activity. *Journal of Neuroscience*, 26(23), 6213-6229.
- Wu, A., & Liu, Y.** (2015). Deltamethrin induces apoptosis and altered expression of P53, Bax, and Bcl-2 in rat brain. *Journal of Nature and Science*, 1(1), 2.

- Yan, D., Zhang, Y., Liu, L., & Yan, H.** (2016). Pesticide exposure and risk of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Scientific reports*, *6*, 32222.
- Yang, D., Wang, X., Chen, Y. T., Deng, R., & Yan, B.** (2009). Pyrethroid insecticides: isoform-dependent hydrolysis, induction of cytochrome P450 3A4 and evidence on the involvement of the pregnane X receptor. *Toxicology and applied pharmacology*, *237*(1), 49-58.
- Yang, Y., Zong, M., Xu, W., Zhang, Y., Wang, B., Yang, M., & Tao, L.** (2017). Natural pyrethrins induces apoptosis in human hepatocyte cells via Bax-and Bcl-2-mediated mitochondrial pathway. *Chemico-biological interactions*, *262*, 38-45.
- Ye, M., Beach, J., Martin, J. W., & Senthilselvan, A.** (2013). Occupational pesticide exposures and respiratory health. *International journal of environmental research and public health*, *10*(12), 6442-6471.
- Ye, M., Beach, J., Martin, J. W., & Senthilselvan, A.** (2016). Pesticide exposures and respiratory health in general populations. *Journal of Environmental Sciences*.
- Yousef, M. I., Awad, T. I., & Mohamed, E. H.** (2006). Deltamethrin-induced oxidative damage and biochemical alterations in rat and its attenuation by Vitamin E. *Toxicology*, *227*(3), 240-247.
- Zhang, Y., & Benet, L. Z.** (2001). The gut as a barrier to drug absorption: combined role of cytochrome P450 3A and P-glycoprotein. *Clinical pharmacokinetics*, *40*(3), 159-168.

Annexe 01 :

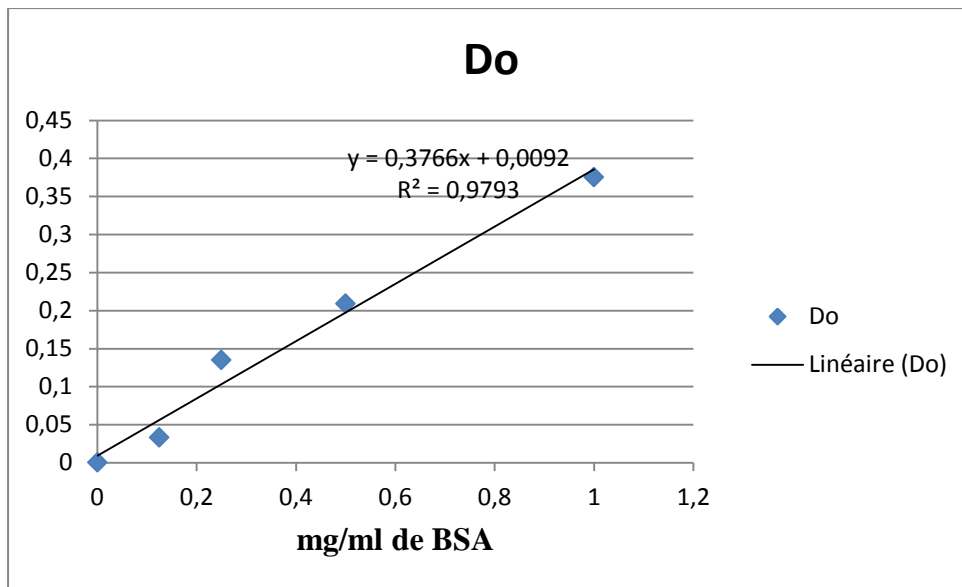


Figure 1. Courbe d'étalonnage des protéines (sérum albumine bovine comme standard).

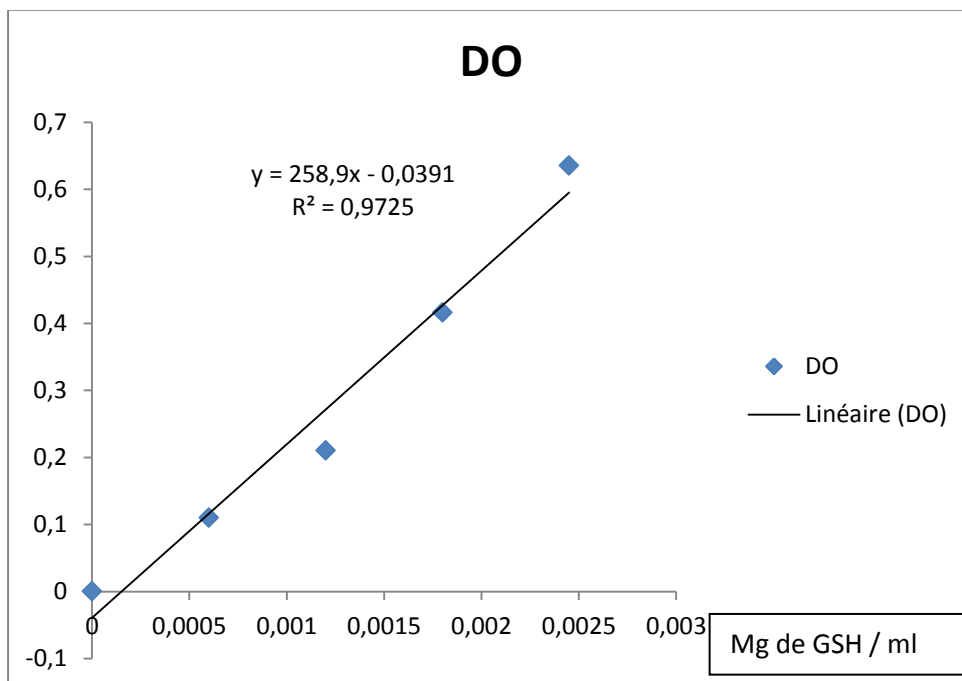


Figure 02. Courbe d'étalonnage de GSH.

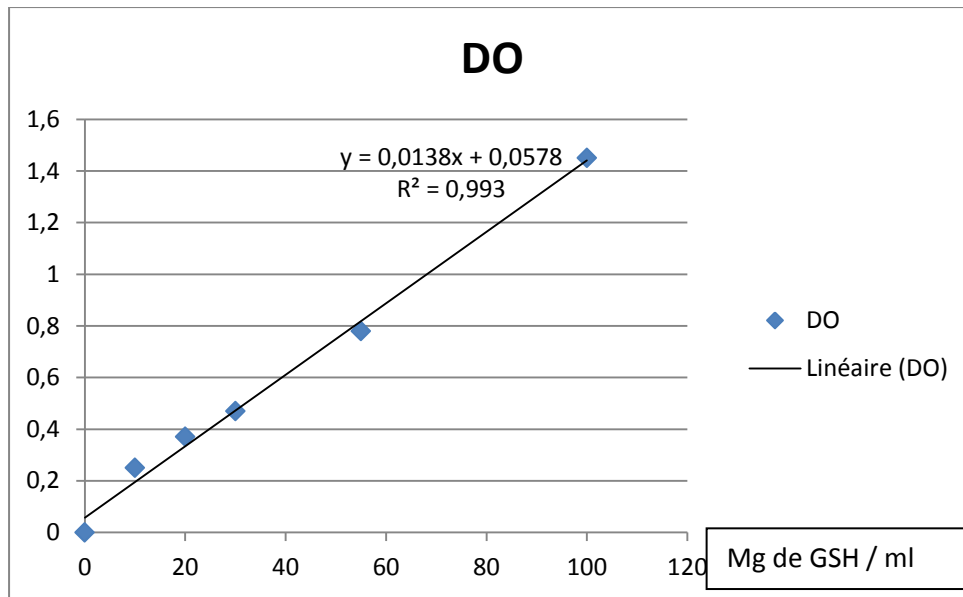


Figure 3. Courbe d'étalonnage de MDA.

Annexe 02 :

- **La préparation des solutions tampons KH_2PO_4**

6.8g.....500 ml d'eau distillée (MM 136g/mol/l).

- **La préparation des solutions tampons Na_2HPO_4**

7.1g500 ml d'eau distillée (MM= 142g/mol/l).

- **Préparation de la solution TSE (QSP 500ml)**

TSE (250 mM sucrose, 50Mm EDTA, PH 7.2 à 4C°)

Sucrose 42.8g

Tris 3.02g

EDTA 0.73g

- **Préparation de la solution TS (QSP500ml)**

TS (250 mM sucrose, 50Mm Tris, PH 7.4 à 20) °C)

Sucrose 42.8g

Tris 3.02g

- **Préparation de la hypotonique (QSP100ml)**

Solution hypotonique (25mM KH_2PO_4 , 5mMgcl2, PH= 7.2)

KH_2PO_4 0.034g

Mgcl2 0.067g

- **Préparation de CDNB (20 mM)**

0.202g du CDNB.....50 ml de l'éthanol (MM= 202.55g/mol/l).

- **Préparation de DTNB (10mM)**

19.8 mg.....5 ml de l'éthanol (MM=396.34).

- **GSH (20mM)**

1.22g.....200 ml d'eau distillée. (MM= 307.32g/mol/l).

- **TCA (20%)**

20g.....100 ml d'eau distillée.

- **H_2O_2 (19mM)**

3.9µl.....200 mL d'eau distillée.

- **TBA (0.67%)**

0.67g.....100 ml d'eau distillée.

Présenté par : - Bouazizi nour el houda -Boulssane wahiba	Encadrant : Dr kebieche
	Date de soutenance : 01 /07/2017

Titre de mémoire : effets neurotoxique des pérythrinoides sur les animaux de laboratoire

Nature du diplôme de Master en biologie
Option : Biochimie et santé

Résumé
 Les pyréthrinoides de synthèse sont des pesticides utilisés dans plusieurs domaines d'agriculture, l'utilisation accrue et non contrôlé de ces pyréthrinoides expose la santé humaine au danger. Dans cette présente étude, nous avons utilisé les pyréthrinoides les plus utilisés dans la région de Jijel, a faibles doses ; 3.72 mg/kg et 2.6 mg/kg respectivement pour déltamethrine (Decis) et bifenthrine (Bifendus) pour montrer leurs effets dans les deux régions du cerveau (striatum, hippocampe) chez les rats *wistar albinos* femelles. Nous avons évalué la toxicité de ces pyréthrinoides et leur effet sur les systèmes de défense anti-ROS et l'activité préventive de la quercétine contre cette toxicité, ainsi l'impact sur la mémorisation et l'apprentissage. Les résultats de cette étude ont montré que les pyréthrinoides augmentent la production des ROS qui induisent une peroxydation lipidique et diminuent l'activité des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques de la cellule, ajouté à cela l'intégrité mitochondriale qui a été lésée par le gonflement, ainsi une diminution de l'apprentissage chez les rats traités par ces toxiques. Tandis que la quercétine possède des propriétés préventives contre le stress oxydatif induit par ces pesticides.

Mots clés : pyréthrinoides, quercétine, neurotoxicité, stress oxydatif, gonflement mitochondrial.

Abstract
 Synthetic pyrethroids are pesticides used in several fields of agriculture; the increased and uncontrolled use of these pyrethroids exposes human health to danger. In this study, we used the most widely used pyrethroids in the Jijel region, at low doses; 3.72 mg / kg and 2.6 mg / kg respectively for deltamethrin (Decis) and bifenthrin (Bifendus) to show their effects in both brain regions (striatum, hippocampus) in female *albino wistar* rats. We evaluated the toxicity of these pyrethroids and their effect on the anti-ROS defense systems and the preventive activity of quercetin against this toxicity, thus the impact on memorization and learning. The results of this study showed that pyrethroids increase the production of ROS that induce lipid peroxidation and decrease the activity of the enzymatic and non-enzymatic antioxidants of the cell, added to this mitochondrial integrity that has been damaged by swelling, as well as a reduction in the learning in the rats treated with these poisons. Whereas quercetin has preventive properties against the oxidative stress induced by these pesticides,

Key Words: pyrethroids, quercetin, neurotoxicity, oxidative stress, mitochondrial swelling.

ملخص
 البيريثرينويدات الاصطناعية من المبيدات المستخدمة في العديد من مجالات الزراعة. إن الاستخدام المفرط لهذه البيريثرينويدات يعرض صحة الإنسان للخطر. في هذه الدراسة، استخدمنا معظم البيريثرينويدات المستخدمة في منطقة جيجل، جرعات منخفضة؛ 3.72 مغ / كغ و 2.6 ملغ / كغ على التوالي لالدلتاميثرين (Decis) وبيفنثرين (Bifendus) لتظهر آثارها في كل مناطق الدماغ (الجسم المخطط ، قرن آمون) في الفئران ويسنار الإناث البيضاء. قمنا بتقييم سمية البيريثرينويدات وتأثيرها على أنظمة الدفاع المضاد للـ ROS والنشاط الوقائي للكيرسيتين ضد سمية وتأثيرها على الذاكرة والتعلم. وأظهرت نتائج هذه الدراسة أن البيريثرينويدات تؤدي إلى زيادة إنتاج ROS التي تحفز على بيروكسيد الدهون وانخفاض نشاط مضادات الأكسدة الأنزيمية والخلايا غير الأنزيمية، إضافة إلى أن الميتوكوندريا قد تضررت من التورم، كما أن التعامل مع هذه المواد السامة خفض التعلم لدى الفئران. في حين أن الكيرسيتين لها خصائص وقائية ضد الأكسدة الناجمة عن هذه المبيدات.

كلمات المفتاح : البيريثرينويد، كيرسيتين، الإجهاد التأكسدي، تورم الميتوكوندريا.

