



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

Université Mustapha Benboulaïd – Batna 2
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie et Biochimie

N°...../SNV/2021

THÈSE

Présentée par

DJELLAL Dounia

Pour L'obtention du Diplôme de **Doctorat LMD**

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

Intitulée:

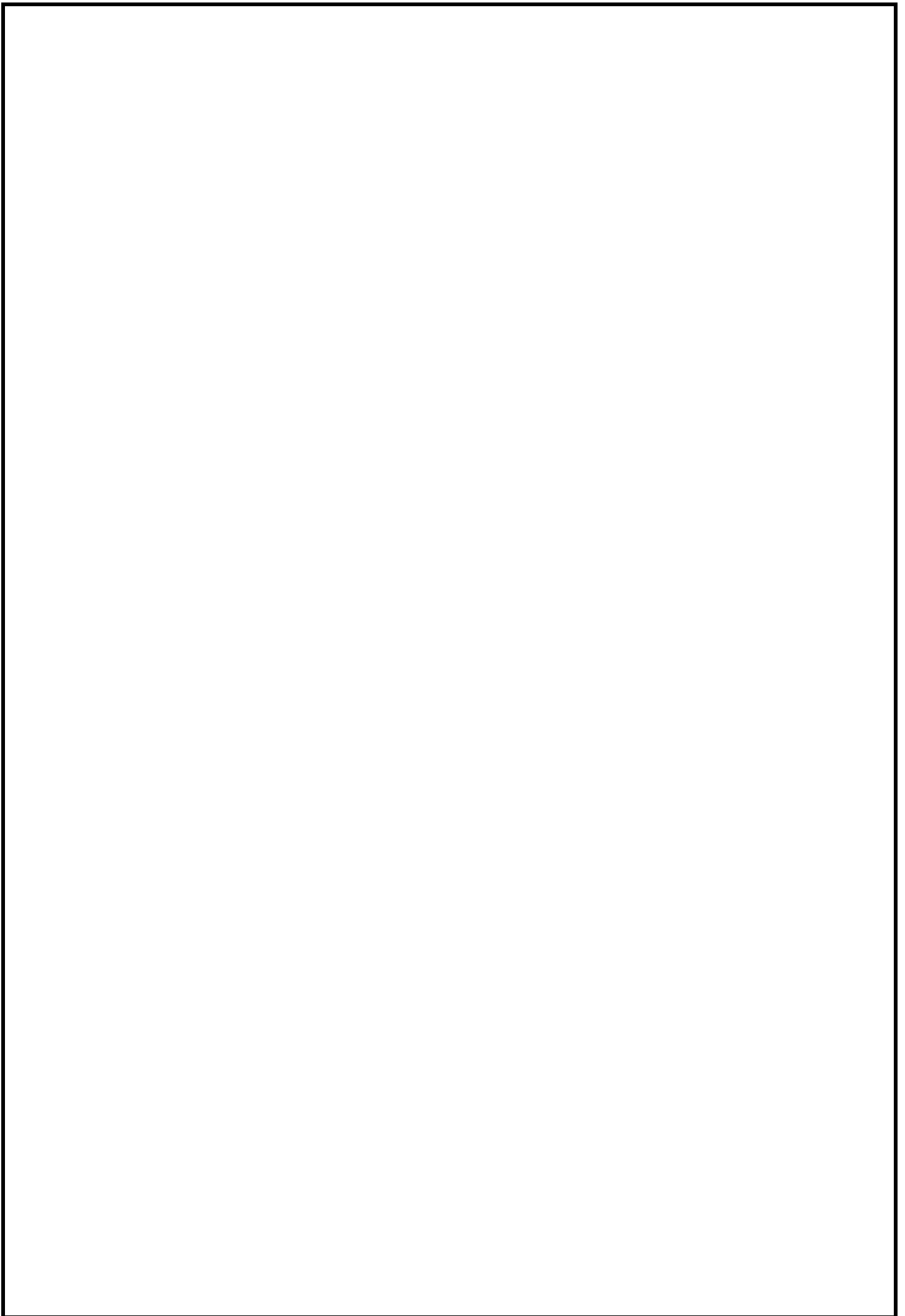
Evaluation des risques toxiques de la consommation chronique des matrices alimentaires contaminées par des polluants organiques persistants (POPs) et recherche des phyto-substances cytoprotectrices chez le rat.

Soutenue le :

Devant le Jury :

Président :	M. SENATOR Abderrahmane	Prof. Univ. Mostepha Benboulaïd-Batna 2
Directeur :	M. KEBIECHE Mohamed	Prof. Univ. Mostepha Benboulaïd- Batna 2
Co-directeur:	M. HANFER Mourad	MCA Univ. Mostepha Benboulaïd-Batna 2
Examineurs :	Mm. ZAMA Djamilia	Prof.Univ. Frères Mentouri Constantine
	M. BENKHALED Abderrahim	MCA.Univ.Mohamed Boudiaf - M'sila
	Mm. DJAARA Hayat	MCA. Univ. Mostepha Benboulaïd -Batna 2

Année Universitaire : 2022/2023



DEDICACE

Je dédie Cette thèse

A mes parents. Je tiens à exprimer ma gratitude particulièrement envers ma chère mère et mon chère père pour leur assistance infaillible tout au long de mon parcours académique, leur soutien indéfectible et leurs encouragements constants qui m'ont accompagné durant ces longues années d'études.

A mes frères ; Issam, Ramzi, Chouki, Kossai.

A mes oncles, mes tantes et toute ma famille.

A mes amies ; Zeyneb, Souhila, Asma, Farida, Rahma, Dafel, Dhikra.

Dounia

REMERCIEMENTS

En premier lieu, je remercie, le bon Dieu, de m'avoir donné du courage et surtout de la patience pour pouvoir achever ce travail.

Mes sincères remerciements et mes profondes reconnaissances sont adressés

*A Monsieur Professeur **KEBIECHE Mohamed**, pour la direction de ce travail et surtout pour sa patience, son soutien, et les facilités qu'il m'a offerte pour dépasser les moments difficiles, ainsi que son caractère amical.*

*A monsieur **Dr HANFER Mourad**, pour avoir accepté de me co-encadrer dans cette thèse.*

J'adresse mes remerciements aussi aux membres de jury :

***M. SENATOR Abderrahmane** ; Professeur de Université de Mostepha Benboulaïd-Batna 2, qui m'a fait l'honneur de présider ce jury.*

***M^{me}. ZAMA Djamila**, **M. BENKHALED Abderrahim**, **M^{me}. DJAARA Hayat** qui ont accepté de juger ce travail en l'occurrence, et qui ont manifesté un intérêt pour notre travail.*

*Je veux remercier spécialement **Dr Hachemi Messaoud**, les doctorantes **Chouit Zeyneb** et **Haddad Souhila**, et **Mlle Asma***

Zouaoui pour leurs aides et encouragements afin d'achever ce travail, et aussi pour m'avoir supporté durant la réalisation de cette thèse.

Je remercie également Mr Billel Ghiloubi, Mr Abriche Mokhtar, Dr Zakaria Hadjouli.

Je tiens à remercier sincèrement, les ingénieurs :

Du laboratoire pédagogique M^{me} Bechehe Leïla,

Du laboratoire de pharmacologie et toxicologie

M^{me} Metlef Leïla

Du laboratoire d'écologie Fouzia, Amel, Meriem, Imene Abdou,

Du laboratoire d'histologie et cytologie, M^{me} Naïma, Mouna, Dalila

Pour leur accueil et la confiance qu'ils m'ont accordés au cours de la réalisation de ce travail.

Je remercie également les doctorants de ma promo en particulier, Feriel Naïmet Ounesse, Hraïche Mohamed, Kaïm Nawel, kouda Nour elhouda pour leur aide, leur soutien, leur gentillesse, et je leur je souhaite bon courage et bonne continuation dans leur travail de doctorat.

Sans oublier de remercier également mes enseignants au cours des années de ma formation doctorale.

*Enfin, j'adresse mes profonds remerciements à tous ceux qui,
directement ou indirectement ont contribué à ce travail.*

Djellal Dounia

SOMMAIRE

المخلص.....	XIII
Résumé.....	XIV
Abstract.....	XV
Liste des abréviations	XVI
Liste des figures.....	XIII
Liste des tableaux	XVII
Introduction.....	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	1
Chapitre 1.....	2
Généralités sur les pesticides	2
1. Généralités sur les pesticides.....	4
1.1. Définition des pesticides	4
1.2. Classification	4
1.3. Exposition aux pesticides	5
1.4. Devenir des pesticides dans l'environnement	6
1.5. Toxicité des pesticides	7
1.6. Néonicotinoïdes	8
1.6.1. Généralité	8
1.6.2. Mode d'action des néonicotinoïdes	9
1.6.3. Toxicité des néonicotinoïdes	10
1.7. Etude de Thioclopride (THI) (membre de la famille des néonicotinoïdes).....	11
1.7.1. Généralité	11
1.7.2. Caractéristiques physico-chimiques de THI.....	12
1.7.3. Valeurs de toxicité de THI	13

1.7.3.1. Toxicocinétique de THI.....	13
1.7.3.2. Toxicodynamique de THI.....	14
1.7.4. Passage de THI sur la barrière hémato-encéphalique	15
1.7.5. Passage placentaire	15
2. Neurotoxicité de THI après une exposition chronique chez le rat adulte et bioactivité de l'extrait des amandes amères des noix d'abricot <i>Prunus armniaca</i> L.....	16
2.1. Neurotoxicité	16
2.1.1. Généralité	16
2.1.2. Système nerveux central (SNC).....	16
2.1.2.1. Organisation du SNC	16
2.1.2.2. Anatomie du SNC	17
2.1.2.3. Histologie	17
2.1.4. Physiologie régionale du SNC.....	19
2.1.4.1. Hippocampe	20
2.1.4.2. Le striatum	21
2.1.5. Fonctionnement du système nerveux	22
2.1.5.1. Le flux nerveux	22
2.1.5.2. Les neurotransmetteurs.....	23
2.1.6. Intégration des neurotransmetteurs dans les fonctions cérébrales	25
2.1.6.1. Intégration dans la mémorisation.....	25
2.1.6.2. Intégration dans l'apprentissage	26
2.1.6.3. Intégration dans la conscience	27
2.1.6.4. Intégration dans l'anxiété	27
2.1.6.7. Intégration de la mitochondrie dans la fonction neuro-énergétique	30
2.1.7. Stress oxydatif et mort cellulaire	31
2.1.7.1. Généralité.....	31
2.1.7.2. Les antioxydants	32

2.1.7.1.1. Les antioxydants enzymatiques	32
2.1.7.1.2. Les antioxydants non enzymatiques.....	33
2.1.7.3. Impacts de stress oxydatif sur l'intégrité structurale et fonctionnelle des cellules et des mitochondries	34
2.1.7.3.1 Généralité	34
2.1.7.3.2. Mécanisme de la perméabilisation membranaire mitochondriale	35
2.1.7.3.3. Mort cellulaire.....	36
2.1.8. Amandes amères des noix d'abricot <i>Prunus armeniaca L.</i>	40
2.1.9.1. Généralités	40
2.1.9.2. Composition chimique des amandes amères des noix d'abricot	41
2.1.9.3. Propriétés pharmacologiques.....	41
2.1.9.4. Mode d'action des composants des amandes amères des noix d'abricot.....	43
2.1.9.5. Toxicité des amandes amères des noix d'abricot.....	44
2.1.9.6. Effets neurocytoprotecteurs des amandes amères des noix d'abricot.....	45
3. Hépatotoxicité de THI après une exposition chronique chez le rat adulte et bioactivité de l'extrait des amandes amères des noix d'abricot <i>Prunus armniaca L.</i>	47
3.1.Généralité sur le foie	47
3.2.Cellules du foie	48
3.3.Les Fonctions du foie.....	49
3.4.Hépatotoxicité induite par le THI.....	52
3.5.Effets hépatocytoprotecteurs des phyto substances.....	52

PARTIE EXPERIMENTALE

1. Etude phytochimique de l'extrait hydroalcoolique des amandes amères d'abricot <i>Prunus armeniaca L.</i>	53
1. Matériels et Méthodes.....	53
1.1. Récolte et séchage du matériel végétal	53
1.1.1. Extraction	53
1.1.1. 1.Calcul de rendement.....	53

1.1.2. Criblage phytochimique de l'extrait hydroalcoolique	54
1.1.3. Dosage des polyphénols totaux	55
1.1.4. Dosage des flavonoïdes totaux	56
1.1.5. Dosage des tannins totaux	56
1.1.6. Dosage des protéines totales.....	57
1.1.7. Dosage des sucres solubles totaux	57
1.1.8. Analyse par infrarouge	57
1.1.9. Identification des différents composés de l'extrait hydroalcoolique par HPLC-DAD	57
1.1.10. Evaluation du pouvoir antioxydant	58
1.1.10.1. Test au DPPH.....	58
1.1.10.2. Test de blanchiment du β -carotène	58
1.1.10.3. Pouvoir réducteur (PR).....	59
1.1.10.4. Test au phosphomolybdate (capacité antioxydante totale).....	59
1.1.12. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	60
1.1.12.1. Effets de la stabilisation des membranes plasmiques	60
1.1.13. L'activité antibactérienne	62
2.1. Extraction	63
2.1.1. Criblage phytochimique	63
2.1.2. Dosage des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins	64
2.1.3. Dosage des sucres totaux et des protéines.....	65
2.1.4. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	66
2.1.5. Identification des différents composés de l'extrait hydroalcoolique par HPLC-DAD	68
2.1.6. Activité antioxydante	70
2.1.6.1. Test de blanchiment du β -carotène	71
2.1.6.4. Test au phosphomolybdate (capacité antioxydante totale).....	73
2.1.7. L'activité hémostatique	74
2.1.8. L'activité anti-inflammatoire.....	75

2.1.8.1. Effets sur la stabilisation des membranes plasmiques	75
2.1.8.2. Inhibition de la dénaturation de l'albumine.....	76
2.1.9. Activité antibactérienne.....	77
3. Discussion	77
3.1. Criblage phytochimique	77
3.2. Dosage des polyphénols, flavonoïdes et tanins	78
3.3. Dosage des sucres totaux et des protéines.....	78
3.4. Spectres FTIR de l'extrait hydroalcoolique des amandes amère d'abricot <i>Prunus armeniaca</i> L.	78
3.5. Identification des différents composés de l'extrait hydroalcoolique des amandes amère d'abricot <i>Prunus armeniaca</i> L par HPLC-DAD	79
3.6. Activité antioxydante	80
3.7. Activité anti-inflammatoire	81
3.8. Activité hémostatique	81
3.9. Activité antibactérienne	82
Conclusion	82
2. Neurotoxicité de THI après une exposition chronique chez le rat adulte et bioactivité de l'extrait hydroalcoolique des amandes amère d'abricot <i>P. armeniaca</i> L.	84
1. Matériel et méthodes.....	84
1.1. Préparation des solutions.....	84
1.2. Entretien et répartition des animaux	84
1.3. Mesure du poids corporel.....	84
1.4. Les tests de comportement	85
1.4.1. Test du champ ouvert (Open field test OF)	85
1.4.2. Elevated plus maze (EPM)	86
1.4.3. Test de force de nage.....	86
1.4.4. Le NOR (novel object recognition)	87
1.4.5. Écran inversé de Konziela (Kondziela's Inverted Screen (KIS)).....	88

1.4.6. Balance beam (BB)	89
1.5. Estimation du poids relatif du cerveau.....	90
1.6. Préparation de la matrice mitochondriale de striatum et l'hippocampe.....	90
1.6.1. Evaluation du gonflement et de la perméabilité mitochondriale	90
1.6.2. Dosage des paramètres de stress oxydatif	91
1.6.2.1. Dosage des protéines.....	91
1.6.2.2. Mesure de l'activité de catalase	91
1.6.2.3. Mesure de l'activité de la Superoxyde dismutase (SOD).....	91
1.6.2.4. Dosage de malondialdehy (MDA)	92
1.6.2.5. Dosage de glutathion.....	92
1.6.2.6. Mesure de l'activité de glutathion-s-transférase.....	92
1.6.2.7. Mesure de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx)	93
1.7. Préparation de la fraction cytosolique.....	93
1.7.1. Mesure de l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase (AChE)	93
1.8. Dosages des paramètres apoptotiques dans le striatum et l'hippocampe.....	94
1.8.1. Préparation des lysats tissulaires.....	94
1.8.1.1. Cytochrome-c.....	94
1.8.1.2. Caspases-3 et 9.....	94
1.8.1.3. Bcl2 (lymphome à cellules B 2) et de Bax (protéine X associée à Bcl2)	95
1.8.1.4. Dosage de Ca ⁺⁺ cytosolique.....	95
1.9. Histologie	95
1.10. Analyses statistiques	95
2.1. Variation mensuelle du poids corporel	96
2.2. Estimation du poids relatif du cerveau.....	96
2.3. Évaluation des changements comportementaux et cognitifs.....	97
2.3.1. Évaluation de la locomotion des rats par le test OF.....	97
2.3.2. Evaluation de l'anxiété des rats par le test EPM	97

2.3.3. Evaluation de la dépression par le test de la nage forcée	98
2.3.4. Test de Novel Object Recognition (NOR)	99
2.3.5. Test d'Écran inversé de Konziela (Kondziela's Inverted Screen (KIS))	100
2.3.6. L'évaluation de l'équilibre par le test balance beam (BB).....	101
2.4. Evaluation des paramètres de stress.....	102
2.5. AChE	104
2.6. Evaluation de gonflement et perméabilité mitochondriale (Tableau 12).....	104
2.7. Évaluation des marqueurs apoptotique dans le str et hipp	105
2.8. Etude histopathologique du cerveau (Figure 46).....	107
3. Discussion	108
3.1. Variation mensuelle du poids corporel des rats exposés chroniquement au THI.....	109
3.2. Estimation du poids relatif du cerveau.....	109
3.3. Evaluation des paramètres comportementaux	109
3.4. Evaluation de gonflement et perméabilité mitochondriale	113
3.5.Evaluation des paramètres du statut redox mitochondrial dans le striatum et l'hippocampe	113
3.7. Dosage des marqueurs apoptotique dans le striatum et l'hippocampe	117
3.8.Etude histologique de cerveau.....	117
•Conclusion :	118
3. Effet neurotoxique de THI sur la génération G1 des rats après une exposition gestationnelle et lactationnelle et bioactivité de l'extrait hydroalcoolique des amandes amère d'abricot <i>P.</i> <i>armeniaca</i> L.	121
1. Matériel et méthodes.....	121
1.1. Entretien des animaux.....	121
1.1.1. Génération G1.....	121
1.2. Mesure de poids corporel.....	122
1.3. Les tests de comportements.....	122
1.4. Estimation des du poids relatif du cerveau.....	122

1.5. Préparation de la matrice mitochondriale de striatum et l'hippocampe.....	122
1.5.1. Evaluation du gonflement et perméabilité mitochondriale	122
1.5.2. Dosage des paramètres de stress.....	122
1.6. Préparation de la fraction cytosolique.....	122
1.6.1. Mesure de l'activité enzymatique de l'acétylcholine éstérase	122
1.7. Dosage des paramètres apoptotique dans le striatum et l'hippocampe.....	122
1.7.1. Préparation des lysats tissulaires.....	122
1.7.1.1. Cytochrome c	122
1.7.1.2. Dosage de calcium cytosolique.....	122
1.8. Histologie	122
1.9. Analyse statistique	122
2. Résultats	122
2.1. La variation pondérale des animaux traités	122
2.2. Évaluation des changements comportementaux et cognitifs.....	123
2.2.1. Évaluation de la locomotion des rats par le test OF.....	123
2.2.2. Evaluation de l'anxiété des rats par le test EPM	124
2.2.3. Evaluation de la dépression par le test de la nage forcée	125
2.2.4. Test de Novel Object Recognition (NOR)	126
2.2.5. Test de Kondziela's Inverted Screen (KIS).....	127
2.2.6. L'évaluation de l'équilibre par balance beam	127
2.3. Estimation du poids relatifs du cerveau	128
2.4. Evaluation du gonflement et perméabilité mitochondriale	129
2.5. Stress oxydatif	130
2.6. Evaluation de l'activité de l'AChE	133
2.7. Cytochrome c.....	133
2.8. Ca ⁺⁺	134
2.9. Examen histopathologique du cerveau de G1	135

3. Discussion	137
3.1. Mesure de poids corporel	138
3.2. Evaluation des paramètres comportementaux des rats de G1	138
3.3. Estimation du poids relatifs de cerveau	140
3.4. Gonflement et perméabilité mitochondriale	140
3.5. Les paramètres de stress oxydatif chez les rats mâles et femelles de G1	141
3.6. AChE	143
3.7. Cytochrome c	144
3.8. Ca ⁺⁺ cytosolique dans le striatum et l'hippocampe	144
3.9. Etude histopathologique du cerveau des rats de G1	145
• Conclusion	145
4. Hépatotoxicité de THI chez les rats adultes sous exposition chronique et bioactivité de l'extrait hydroalcoolique des amandes amères des noix d'abricot <i>P.armeniaca</i> L.....	146
1. Matériel et méthodes	146
1.1. Entretien et répartition des animaux	146
1.2. Mesure de poids corporel	146
1.3. Estimation des du poids relatif du foie.....	146
1.4. Prélèvement et analyses biochimiques.....	146
1.4.1. Principe d'évaluation des paramètres de la fonction hépatique	146
1.4.1.1. Dosage de l'aspartate aminotransférase (AST).	146
1.4.1.2. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALT).....	147
1.4.1.3. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL)	147
1.4.1.4. Dosage de la bilirubine totale (BILIT et directe (BILID)).....	147
1.4.1.5. Dosage de Gamma glutamyl transférase (GGT).....	148
1.4.1.6. Dosage des protéines totales	148
1.5. Préparation de la matrice mitochondriale de foie	148
1.6. Evaluation du gonflement et perméabilité mitochondriale	148

1.6. Dosage des paramètres de stress.....	148
1.7. Préparation de la fraction cytosolique.....	148
1.7.1. Mesure de l'activité enzymatique de l'acétylcholine éstérase	148
1.7.2. Dosage de calcium cytosolique	148
1.8. Etude histopathologique.....	148
1.9. Analyse statistique	148
2. Résultats	148
2.1. Estimation du poids relatif du foie.....	149
2.2. Les paramètres d'évaluation de la fonction hépatique.....	149
2.3. Evaluation du gonflement mitochondrial.....	150
2.4. Evaluation de la perméabilité mitochondriale du foie	150
2.5. Evaluation du statut redox dans les mitochondries hépatiques	151
2.6.AChE	154
2.7.La teneur cytosolique en Ca ⁺⁺	155
2.8. Histologie de foie.....	156
3. Discussion	157
3.1. Estimation du poids relatif du foie.....	157
3.2. Les paramètres biochimiques de foie.....	157
3.3. Le gonflement et la perméabilité mitochondriale du foie	158
3.4. Les paramètres de stress oxydatif dans le foie	158
3.5.AChE	160
3.6.Ca ⁺⁺ cytosolique.....	160
3.7.Histologie de foie.....	160
•Conclusion	161
Conclusion et perspectives.....	164
Références.....	167
Annexes	153

الملخص

هذه الدراسة تهدف الى تقييم الانشطة البيولوجية للمستخلص المائي الكحولي لنواة المشمش المر *P. armeniaca* ، تقييم التسمم العصبي لدى الجرذان البالغة من خلال نافذتين للتعرض (التعرض لدى البالغين والتعرض قبل الولادة وبعدها) ، تقييم السمية الكبدية لـ الثياكلوبريد وذلك بجرعة صغيرة قدرها 0.02 ملغم / كغم ؛ وكذلك تقييم التأثيرات الواقية للخلايا للمستخلص النباتي في دماغ وكبد الحيوانات بجرعة قدرها 50 ملغم / كغم. تم تطبيق العديد من الأساليب والطرق في هذه الدراسة ، والتي تتمثل في التقييم المعرفي من خلال تطبيق جملة من الاختبارات السلوكية العصبية ، الطرق البيوكيميائية لتقييم حالة الأكسدة وسلامة الميتوكوندريا ، الموت الخلوي في المخطط والحصين .بالإضافة إلى تقييم السمية الكبدية ووظائف الكبد، والدراسة التشريحية للعضوين المختارين في هذا العمل (الدماغ والكبد). تظهر نتائج هذه الدراسة احتواء مستخلص نواة المشمش المر على مجموعة كاملة من المركبات الفينولية وأميجدالين بشكل أساسي .من ناحية أخرى ، أظهر الثياكلوبريد تأثيرًا عصبيًا لدى جميع الجرذان البالغة بغض النظر عن نافذة التعرض ، مما أدى إلى تغييرات معرفية مثل اضطراب المهارات الحركية والحفظ والتعلم والقلق والاكتئاب .من ناحية أخرى ، تسبب هذا المبيد الحشري في خسائر في السلامة الهيكلية والجزئية للخلايا المخططة والحصينية والكبدية ، سواء لدى البالغين المعرضين مباشرة أو البالغين المعرضين بشكل غير مباشر له ، أي اختلال نظام الأكسدة في الميتوكوندريا وأكسدة الدهون ، مما سبب فقدان النفاذية وانتفاخ الميتوكوندريا في كل هذه الأنسجة .زاد الثياكلوبريد أيضًا من مؤشرات موت الخلايا المبرمج مثل Cyt-c و caspase 9 و Bax و Bcl2 وخفض Bcl2 في خلايا المخطط والحصين للجرذان البالغة المعرضة بشكل مباشر للثياكلوبريد، بالإضافة إلى ذلك ، تم تثبيط الوظيفة الكولينية في جميع الأنسجة التي تمت دراستها في هذه الحيوانات ، إلى جانب فقدان وظائف الكبد الذي ينعكس من خلال ارتفاع ترانسامينازات في المصل ، والفوسفاتاز القلوي والبليروبين عند البالغين المعرضين بشكل مباشر . وأظهرت الدراسة النسيجية التي أجريت على العضوين (الدماغ والكبد) بشكل خاص ضمور الخلايا الكبدية بسبب النخر الخلوي مع وجود خلايا مناعية مثل النتروفيل و ضمور الخلايا العصبية دون وجود هذه الخلايا المناعية في الدماغ ، مما يوجه التفسير نحو الموت الخلايا المبرمج .ومع ذلك ، فإن مستخلص نواة المشمش المر منع حدوث التأثيرات السامة على المستوى السلوكي العصبي أو الخلوي أو الميتوكوندريا . وفي الاخير هذه الدراسة تبين أن تعرض الجرذان البالغة المزمن للثياكلوبريد المباشر وغير المباشر قبل الولادة وبعدها أدى إلى اضطراب إدراكي وتغيرات في الميتوكوندريا وتحريض موت الخلايا المبرمج وفقدان الوظيفة الكولينية والكبدية وضمور الأنسجة الدماغية والكبدية .بالإضافة إلى ذلك ، أظهر هذا المستخلص النباتي المستخدم قدرة وقائية ضد جميع التغييرات السامة التي ينتجها المبيد الحشري المستخدم.

الكلمات المفتاحية : ثياكلوبريد ، مستخلص نواة المشمش المر *P. armeniaca* ، الإجهاد التأكسدي ، موت الخلايا المبرمج، الدماغ، الكبد.

RÉSUMÉ

Cette étude est consacrée à une évaluation phytochimiques et la bio-activité in vitro de l'extrait hydroalcoolique de *P. armeniaca*; à l'évaluation in vivo, de la neurotoxicité régionale chez les rats adultes via deux fenêtres d'exposition (exposition des les adultes et pré et pos-natale) ; à l'évaluation de l'hépatotoxicité de THI à un microdosage de 0.02 mg/kg ; et les effets cytoprotecteurs de cet extrait dans le cerveau et le foie des animaux à la dose de 50 mg / kg. Plusieurs méthodes d'approches ont été appliquées, à savoir l'évaluation cognitive en appliquant les tests de neurocomportement, approches biochimiques pour évaluer le statut redox, l'apoptose et la fonction cholinergique des cellules striatales et hippocampales. En outre, l'évaluation de l'hépatotoxicité, en plus de l'étude histopathologique des deux organes ciblé. Les résultats de cette étude montrent la présence dans l'extrait hydroalcoolique des composés phénoliques et l'amygdaline. D'une part, le THI a montré un effet neurotoxique, chez tous les rats adultes indépendamment de la fenêtre d'exposition, se traduisant par des altérations cognitives. De l'autre part, cet insecticide a induit des pertes de l'intégrité structurale et moléculaire des cellules striatales, hippocampales et hépatiques, tant chez les adultes exposés directement que chez les adultes exposés passivement au THI, à savoir le déséquilibre redox mitochondrial et la lipo-péroxydation, auquel on ajoute une perte de la perméabilité et gonflement mitochondrial dans tous ces tissus. Le THI a également augmenté les indicateurs apoptotiques tels que la Cyt-c, la caspase 9 et 3, Bax et diminution de Bcl2 dans les cellules de striatum et d'hippocampe des rats adultes exposés activement au THI. Par ailleurs, la fonction cholinergique a été réduite dans tous les tissus étudiés de ces animaux, pareillement à une perte de la fonction hépatique traduite par une élévation sérique des transaminases chez les adultes exposés activement au THI. L'étude histologique portée sur les deux organes (cerveau et foie) a montré des dégénérescences cellulaires par nécrose hépatique ou dégénérescence neuronale dans le cerveau. Or, l'extrait a empêché les effets toxiques de se produire tant au niveau neurocomportemental que cellulaire ou mitochondrial. Cette étude permet de conclure que l'exposition chronique au THI directe et exposition indirecte pré et pos-natale des rats adultes, a produit un désordre cognitif, des altérations mitochondriales, induction apoptotique, perte de la fonction cholinergique et hépatique et des lésions tissulaires dans le cerveau et le foie. Par ailleurs, l'extrait utilisé a montré un potentiel cytoprotecteur et préventif contre toutes les altérations produites par cet insecticide.

Mots clés : thiaclopride, extrait de *P. armeniaca*, cerveau, foie, stress oxydatif, apoptose.

ABSTRACT

This study focuses on the phytochemical evaluation and in vitro bioactivity of the hydroalcoholic extract of *P. armeniaca* (apricot). It also evaluates the regional neurotoxicity in adult rats through two exposure windows (adult exposure and prenatal/postnatal exposure), as well as the hepatotoxicity of THI at a microdose of 0.02 mg/kg. Additionally, the cytoprotective effects of this extract on the brain and liver of animals were assessed at a dose of 50 mg/kg. Several approaches were employed, including cognitive evaluation using neurobehavioral tests, biochemical approaches to assess redox status, apoptosis, and cholinergic function of striatal and hippocampal cells. Furthermore, hepatotoxicity evaluation and histopathological studies of the two target organs were conducted. The results of this study demonstrate the presence of phenolic compounds and amygdalin in the hydroalcoholic extract. On one hand, THI exhibited neurotoxic effects in all adult rats, regardless of the exposure window, resulting in cognitive impairments. On the other hand, this insecticide induced losses of structural and molecular integrity in striatal, hippocampal, and hepatic cells, both in directly exposed adults and those passively exposed to THI. These effects included mitochondrial redox imbalance, lipid peroxidation, as well as permeability loss and mitochondrial swelling in these tissues. THI also increased apoptotic markers such as Cyt-c, caspase 9 and 3, and Bax, while decreasing Bcl2 in the striatal and hippocampal cells of actively exposed adult rats. Moreover, cholinergic function was reduced in all studied tissues of these animals, along with impaired liver function indicated by elevated serum transaminases in actively exposed adults. Histological examination of the two organs (brain and liver) revealed cellular degeneration characterized by hepatic necrosis or neuronal degeneration in the brain. However, the extract prevented the toxic effects from occurring both at the neurobehavioral and cellular or mitochondrial levels. This study concludes that chronic direct THI exposure and prenatal/postnatal indirect exposure in adult rats result in cognitive disorders, mitochondrial alterations, apoptotic induction, loss of cholinergic and hepatic function, as well as tissue lesions in the brain and liver. Furthermore, the used extract demonstrated cytoprotective and preventive potential against all alterations induced by this insecticide.

Keywords: thiacloprid, *P. armeniaca* extract, brain, liver, oxidative stress, apoptosis.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

5-HT :	5-hydroxytryptamine ou sérotonine
8-OH-dG:	8-hydroxy-2'-déoxyguanosine
Ac-DEVD-pNA :	N-Acetyl-Asp-Glu-Val-Asp p-nitroanilide; Caspase-3 Substrate
Ach:	Acétylcholine
AChE :	Acétylcholinestérase
Ac-LEHD-pNA :	Ac-Asp-Glu-Val-Asp-pNA Caspase-9 substrate
AGPI :	Les acides gras polyinsaturés
AIF :	Facteur inducteur de l'apoptose
ALT :	Alanine aminotransférase
ANOVA :	Analyse de variance
ANT :	Le nucléotide adénine translocateur
APAF1:	Apoptotic protease activating factor 1
AST :	Atg1/ULK1 :
Atg13 :	Facteurs d'autophagie requis pour la formation d'autophagosome
ATP :	Adénosine- triphosphate
bax :	BCL2 Associated X protein , Apoptosis Regulator
bcl-2 :	Protéines anti-apoptotiques
Bcl-XL :	B-cell lymphoma-extra large
BH3 :	Borine, trihydrure de bore, trihydridobore
BILI T :	Bilirubine totale
CA:	Corne d'Ammon
Ca⁺⁺:	Ion calcium
CARD :	Caspase recrutement domain

CAT:	Catalase
CDNB :	1-chloro, 2,4-dinitrobenzène
CGE :	L'éminence ganglionnaire caudale
CON :	Controle
Cu :	Cuivre
cyp D :	Cyclophiline D
Cyt-c :	Cytochrome
DA :	Dopamine
DAPK :	Death-Associated protein kinase
DJA :	Dose journalière admissible
DL50 :	Dose mortel 50
DMSO :	Dimethyl sulfoxide
DOPAL :	Dopamine quinone ou (3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde)
DR :	Récepteurs de mort
DTNB :	Acide 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoïque ou réactif d'Ellman
DTT :	Dithiothréitol
EAG :	Equivalent d'acide gallique
EDTA :	Acide Ethylène-Diamine-Tétraacétique
EFSA :	Autorité européenne de sécurité des aliments
ELISA :	Enzyme linked-immunosorbent assay
EPM:	Elevated plus maze
EQ :	Equivalent quercétine
ERO :	Espèces Réactives de l'Oxygène
EROA :	Espèces réactives de l'oxygène et de l'azote
EXT :	Extrait
Fe :	Fer

FSH :	Hormone folliculo-stimulante
G1 :	Génération 1
GABA :	Acide gamma-aminobutyrique
GD :	Gyrus denté
GGT :	Gamma-glutamyltranspeptidase
GPx :	Glutathion peroxydase
GSH :	Glutathion réduit
GSSG :	Glutathion oxydée
GST :	Glutathion-S-transférase
H₂O₂ :	Peroxyde d'hydrogène
HEPES :	Acide 4-2-hydroxyéthyl-1-pipérazine éthane sulfonique
Hipp :	Hippocampe
HtrA2/ Omi :	Mitochondrial serine protéase
IR :	L'indice de reconnaissance
KIS :	Kondziela's Inerted Screen
LCR :	Liquide céphalorachidienne
LDL :	Lipoprotéine de faible densité
LD50 :	La dose létale médiane
LGE :	Lateral ganglionic eminences
LH :	luteinizing hormone
IL-2 :	Interleukine 2
MA :	Maladie d'Alzheimer
MBG :	Membrane basale glomérulaire
Mcl-1 :	Induced myeloid leukemia cell
MDA :	Acide Malon-dialdéhyde

MGE :	Median ganglionic eminences
MH :	Maladie de Huntington
Mit :	Mitochondrie
MnSOD :	Manganese-dependent superoxide dismutase
MP :	Maladie de Parkinson
mPTP :	Mitochondrial Permeability Transition Pore
mTOR :	Cible de la rapamycine chez les mammifères
nAChRs:	Récepteur nicotinique de acétylcholine
NAD(P)H:	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NADPH oxidase :	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase
NADPH :	Nicotinamide-adéninedinucléotide-phosphate réduit.
NK :	Cellules tueuses naturelles
NOAEL :	No observed adverse effect level
NOR:	Novel object recognition
noxa :	NADPH oxidase activator
NP-40 :	Nonyl phenoxy polyethoxy ethanol
O₂^{•-} :	Radical superoxyde (anion superoxyde)
OF :	Open field test
OH• :	Radical hydroxyle
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
PAL :	Phosphatase alcaline
p-NA :	p-nitroaniline
PND :	Période postnatale
POPs :	Polluants organiques persistants
Puma :	P ⁵³ up-regulated modulator of apoptosis
R% :	Rendement

ROO• :	Radical peroxy
ROS :	Espèces réactives oxygénées
SDS :	Sodium dodecyl sulfate
Se :	Sélénium
SH :	Thiol
Smac/Diablo :	Mitochondria-derived activator of caspases (samc)
SNC :	Système nerveux centrale
SNP :	Système Nerveux Périphérique
SOD :	Super oxyde-dusmitase
Str :	Striatum
T3 :	De triiodothyronine 3 libre
T4 :	De triiodothyronine 4 libre
TBA :	L'acide thiobarbiturique
TCA :	Trichloracétique
TGF-β1 :	Transforming growth factor beta
TGO :	Glutamate oxaloacétate-transaminase
TGP :	Glutamate pyruvate-transaminase
TH :	THI
TIM :	Temps d'immobilité
TNF :	Facteur de nécrose tumorale
TS :	Tris, sucrose
TSE :	Tris, sucrose, EDTA
TSH :	Thyréostimuline
VDAC :	Canal anionique voltage dépendant
WTS :	Waterpipe Tobacco
Zn :	Zinc

ΔDO : Delta de densité optique

UNITÉS DE MESURES

J : Jour

kDa : Kilodaltonne

s : Seconde

UI : Unité international

Δt : Delta de temps

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Mode d'exposition des organismes vivants aux pesticides	6
Figure 2. Devenir des pesticides dans l'environnement	7
Figure 3. Les différents néonicotinoïdes	9
Figure 4. Mode d'action des néonicotinoïdes	10
Figure 5. Thiaclopride.....	12
Figure 6. A1 : Modification supplémentaire de la substituants chloropyrimidyle de THI, B3 : modification métabolique des substituants acrylique et hétérocyclique de THI, C : Voie métabolique de THI chez les souris (m) et l'épinard (S).....	14
Figure 7. Les majeures parties constituant le système nerveux central.	16
Figure 8. Structure d'un neurone	18
Figure 9. La classification structurale des neurones	18
Figure 10. Les cellules gliales du système nerveux central	19
Figure 11. Structure de l'hippocampe	20
Figure 12. Structure de striatum	21
Figure 13. A : Présentation de la progression de l'influx nerveux le long d'un neurone amyélinique (en haut) et le long d'un neurone myélinique (en bas) B : Mode de transmission des signaux nerveux.....	23
Figure 14. Production et neutralisation des espèces réactives de l'oxygène	33
Figure 15. Différents dommages des néonicotinoïdes, les dommages à l'ADN, l'apoptose cellulaire, l'oxydation des protéines et la peroxydation des lipides, l'altérant l'homéostasie du Ca^{2+} mitochondrial, inhibant la respiration et induisant la production ERON	38
Figure 16. Les amandes amères des noix d'abricot, avec et sans coque (<i>Prunus armeniaca</i> L.)	41
Figure 17. Action de Laetrile (Vit B17) sur le Cancer	44
Figure 18. Anatomie hépatique du foie.....	47
Figure 19. Les cellules de foie.....	49
Figure 20. Les différentes voies de biotransformation et excrétion des xénobiotiques dans l'hépatocyte	50
Figure 21. Formation des acides biliaires	51
Figure 22. Spectre FTIR de l'extrait hydroalcoolique des amandes amères des noix d'abricot <i>Prunus armeniaca</i> L	67
Figure 23. Pics d'HPLC-DAD pour l'extrait hydroalcoolique des amandes amères des noix d'abricot <i>P. armeniaca</i> L.	70

Figure 24. Activité antiradicalaire de l'extrait hydroalcoolique des amandes amères des noix d'abricot <i>P. armeniaca</i> L. et de l'acide ascorbique.....	71
Figure 25. Variation des IC50 de l'EXT.....	71
Figure 26. Cinétique de blanchiment du β -carotène à 490 nm en absence et en présence de l'EXT et de la vitamine E.	72
Figure 27. Pouvoir réducteur de l'EXT et de la vitamine C.	73
Figure 28. Concentrations effectrices (EC50) de l'extrait hydroalcoolique et de l'acide ascorbique.	73
Figure 30. L'augmentation du temps de coagulation du plasma avec la croissance des doses de l'EXT.	75
Figure 31. Activité inhibitrice d'hémolyse induite par la chaleur de l'EXT.	76
Figure 32. Activité inhibitrice d'hémolyse induite par l'hypotonie de l'EXT..	76
Figure 33. Potentiel d'inhibition de la dénaturation des protéines de l'EXT.	77
Figure 34. Le test OF.....	85
Figure 35. Le test d'EPM.....	86
Figure 36. Le test de la nage forcée.....	87
Figure 37. Le test NOR.....	88
Figure 38. Le test KIS.....	89
Figure 40. Evaluation de l'activité locomotrice horizontale (ambulation) et verticale (rearing) par le test OF, chez les rats contrôle et traités pendant 90 jours.	97
Figure 41. Evaluation du niveau de dépression, exprimé par le temps d'immobilité, des différents groupes traités en utilisant le test de la nage forcée.....	99
Figure 42. Evaluation de la mémoire et l'apprentissage des différents rats traités chroniquement en utilisant le test NOR.....	100
Figure 43. Evaluation de la force musculaire des rats exposés chroniquement à des différents traitements en utilisant le test KIS.....	101
Figure 44. Evaluation de l'équilibre et la coordination des rats exposés chroniquement aux différents traitements en utilisant le test de balance beam.	101
Figure 45. Variation de l'activité enzymatique de l'AcChE dans l'hippocampe et le striatum après le traitement par le THI et l'extrait pendant 90 jours.	104
Figure 46. Sections histologiques effectuées sur le cerveau des différents groupes d'animaux traités.....	108
Figure 47. La variation de l'activité locomotrice horizontale (ambulation) et verticale (rearing) chez les différents rats traités mâles et femelles exposés passivement durant la gestation et la lactation.....	124

Figure 48. Evaluation du niveau de dépression des rats mâles et femelles de G1 exposés durant la gestation et la lactation au THI et l'extrait, THI + extrait en utilisant le test de la force de nage.....	126
Figure 50. Evaluation de la force musculaire des rats mâles et femelles des différents groupes G1 exposés passivement aux différents traitement durant la gestation et la lactation en utilisant le test KIS.....	127
Figure 51. Evaluation de l'équilibre et la coordination des rats mâles et femelles de G1 exposés durant la gestation et la lactation aux différents traitements en utilisant le test de balance beam.	128
Figure 52. Variation du gonflement mitochondrial de striatum et d'hippocampe des rats mâles et femelles de G1 exposés passivement durant la gestation et la lactation au différents traitements.....	129
Figure 53. Variation de l'activité enzymatique de l'AChE des rats mâles et femelles de G1 exposés passivement durant la gestation et la lactation aux différents traitements.....	133
Figure 54. Variation de taux de cytochrome c dans le striatum et l'hippocampe des rats mâles et femelles de G1 exposés passivement durant la gestation et la lactation aux différents traitements.....	134
Figure 55. Variation de taux de calcium cytosolique dans le striatum et l'hippocampe des rats mâles et femelles de G1 exposés passivement durant la gestation et la lactation aux différents traitements.....	135
Figure 56. Sections histologiques du cerveau des rats des mâles (M) et femelles (F) de G1(1) exposés passivement durant la gestation et la lactation aux différents traitements ((H&E) Gr X 400).....	137
Figure 57. Variation de l'activité enzymatique de mitCAT dans le foie des différents groupes de rats.....	151
Figure 58. Variation de l'activité enzymatique de mitSOD dans le foie des différents groupes traités.....	152
Figure 60. Variation de taux de mitGSH dans le foie des différents groupes de rats traités. ..	153
Figure 61. Variation de l'activité enzymatique de mitGST dans le foie des différents groupes traités.....	154
Figure 62. Variation de l'activité enzymatique de mitGPX dans le foie des différents groupes de rats traités.....	154
Figure 63. Variation de l'activité enzymatique d'AChE dans le foie des différents groupes de rats traités.	155

Figure 64. Variation de taux de calcium cytosolique dans le foie des différents groupes de rats traités..... 155

Figure 65. Les coupes histopathologiques du foie des différents groupes de rats traités. 157

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Les propriétés chimiques du thiaclopride (calypso (480 g/l).....	12
Tableau 2. Résultats de la caractérisation des groupes chimiques dans l'extrait hydroalcoolique des amandes amères des noix d'abricot <i>P.armeniaca L.</i>	64
Tableau 3. La teneur en polyphénols et flavonoïdes et tanins dans l'extrait hydroalcoolique des amandes amères des noix d'abricot <i>P. armeniaca L</i>	65
Tableau 4. La teneur en sucre et protéines dans l'extrait hydroalcoolique des amandes amères des noix d'abricot <i>P. armeniaca L.</i>	65
Tableau 5. Fréquences FTIR et leurs affectations maximales pour les spectres de l'extrait des amandes amères des noix d'abricot <i>Prunus armeniaca L.</i>	67
Tableau 6. Pics d'HPLC-DAD et leur temps de rétention pour l'extrait des amandes amères des noix d'abricot <i>P. armenica L.</i> et les différents standards	69
Tableau 7. Activité antibactérienne de l'extrait hydroalcoolique des amandes amères des noix d'abricot <i>P. armeniaca L.</i>	77
Tableau 8. La variation mensuelle du poids corporel, chez les rats traités durant 3 mois.	96
Tableau 9. La variation de poids relatif de cerveau des rats contrôle et des rats traités.....	96
Tableau 10. Evaluation de la variation du temps passé par les rats dans une chambre sombre et éclairée et le nombre d'entrées dans ces chambres	98
Tableau 11. Variation de glutathion (mitGSH), Malondialdéhyde (mitMDA), l'activité enzymatique de glutathion peroxydase (mitGPx), glutathion S-transferase (mitGST), superoxyde dismutase (mitSOD), et catalase (mitCAT) dans l'hippocampe et le striatum	103
Tableau 12. Le gonflement et la perméabilité mitochondriale dans le striatum et l'hippocampe des différents groupes d'animaux.....	105
Tableau 13. Variation des marqueurs d'apoptose dans le striatum et l'hippocampe chez les différents rats traités par le THI et l'extrait pendant 90 jours.....	106
Tableau 14. Les variations du poids corporel des rats de G1 exposés passivement durant la gestation et la lactation au THI et l'extrait.....	123
Tableau 15. Les variations de temps passé par les rats et le nombre de leurs entrées dans les bras sombre ou éclairée des différents groupes de la génération 1 mâles et femelles.....	125
Tableau 16. La variation de poids relatif des cerveaux des différents groupes de rats de G1 traités passivement pendant la gestation et lactation	128
Tableau 17. Variation de la perméabilité mitochondriale de striatum et l'hippocampe des rats mâles et femelles de G1 exposés passivement durant la gestation et la lactation aux différents traitements.	130

Tableau 18. . Variation de mitGSH, mitMDA, mitGPx, mitGST, mitSOD, et mitCAT dans les mitochondries de l'hippocampe et le striatum chez les rats mâles et femelles de G1 exposés passivement durant la gestation et la lactation aux différents.....	131
Tableau 19. Poids relative (g) du foie des différents groupes de rats traités.	149
Tableau 20. Variation des paramètres sériques de la fonction hépatiques chez les différents groupes traités [(ALT, AST, GGT, PAL (IU/L), BILI T (mg/L), protéine totale (g/dl)].	149
Tableau 21. Variation de gonflement mitochondrial du foie chez les différents groupes traités.	150
Tableau 22. .Variation de perméabilité mitochondriale du foie des différents groupes de rats traités.....	150

Introduction

Introduction

A l'ère de l'avancée technologique tant industrielle qu'agricole, les activités anthropiques ne cessent de s'intensifier davantage pour répondre aux besoins alimentaires et technologiques de la population humaine grandissante. Cette intensification de la culture agricole ne peut être assurée que par l'utilisation intensive des produits phytosanitaires (**Sparfel, 2017**). Ces derniers sont utilisés dans le but de prévenir, contrôler ou éliminer des organismes considérés nuisibles, tout en contribuant également à améliorer la santé publique en combattant certains vecteurs de maladies (**Messiad et al., 2015**). Cependant, les pesticides, par exemple, génèrent des micropolluants de toxicité redoutable pour la population générale en dehors de son circuit professionnel notamment via la consommation chronique des différentes matrices biologiques contaminées.

Les pesticides sont classés selon leurs cibles (herbicides, fongicide, rodenticide, biocide et insecticide), en outre selon le mode d'entrée ou en fonction de leur structure chimique (les organochlorées, les organophosphorées, carbamates, pyréthriinoïdes et néonicotinoïdes) (**Yadav and Devi, 2017**). En réalité, l'industrie chimique cherche toujours des molécules qui sont toutes efficaces contre les organismes cibles et moins nocifs à l'égard des organismes non ciblés, cet objectif peut être atteint par la recherche et l'obtention de nouvelles molécules à activité insecticide. En effet, il y a eu l'arrivée de nouveaux membres faisant partie de la famille des néonicotinoïdes, Elles ont été créées en tant qu'alternative aux insecticides organophosphorés et carbamates connus pour leur toxicité avérée. Cette famille est largement utilisée en agriculture contre les ravages des insectes à cause de son large spectre d'action (**Schaafsma et al., 2015**). En effet, son action se traduit par sa fixation sur les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (RnAch) entraînant ainsi une excitation, une paralysie anormale et la mort des organismes néfastes (**Chen et al., 2014**). Toutefois, plusieurs études de recherches ont montré que ces néonicotinoïdes impactent l'intégrité cellulaire et moléculaire de l'organisme donnant des effets cancérigènes, perturbateurs endocriniens (**Sekeroglu et al., 2014**), neurotoxiques (**Cimino et al., 2017**), hépatotoxiques (**Alarcan et al., 2020**). Cette classe se regroupe en sept variantes chimiques en l'occurrence l'imidaclopride, le thiaméthoxame, le clothianidine, le THI, l'acétamipride, dinotéfurane, et nitonpyrem (**Pang et al., 2020**). Parmi ces néonicotinoïdes, on distingue le Thiaclopride (THI), le plus utilisé en Algérie. Le THI est un insecticide de la famille des néonicotinoïdes chloropyridyliques ayant le même mode d'action que les autres membres de cette famille faisant bloquer les récepteurs de l'acétylcholine (**Galdikova et al., 2019**), il a été enregistré en 2000 sous le nom commercial Calypso 480SC (480 g.L-1)

(Schwarzbacherová et al., 2019). Le peu de travaux que l'on a documentés ont montré que le THI est toxique pour les mammifères tant en exposition aiguë qu'en chronique à de faibles doses ou élevées, provoquant une neurotoxicité (EFSA, 2019), hépatotoxicité et néphrotoxicité (Vivek et al., 2020), des perturbations endocriniennes (Şekeroğlu et al., 2014), une génotoxicité (Galdikova et al., 2015). Après la lecture d'une vaste documentation, on note que le THI n'a pas eu une grande attention des chercheurs en neurotoxicologie environnementale ou alimentaire. En effet, on enregistre que de très peu d'études publiées sur leurs effets neurotoxiques en utilisant les fenêtres de l'utérus et de la lactation comme voie d'exposition (Kammoun et al., 2019). La rareté d'études et de travaux de recherche sur la toxicité de THI et son utilisation extensive en Algérie interpellent la communauté scientifique et les chercheurs pour investir en profondeur les effets toxiques de cet insecticide chez la population générale en faisant une étude prospective de simulation sur les rats.

Dans le contexte toxicopathologique, plusieurs plantes médicinales inscrites comme étant cytoprotectrices et donc susceptibles de prévenir ou de traiter des différents aspects pathologiques induits par les insecticides et d'autres polluants environnementaux. Ces dites plantes sont habituellement utilisées en entier ou en extraits par la médecine traditionnelle. L'abricotier (*Prunus armeniaca* L.) est l'une de ces plantes médicinales que l'on peut utiliser dans cette présente étude pour la prévention des différentes toxicités générées par l'exposition des animaux de laboratoire au THI. Cette plante fruitière appartenant à la famille des Rosacées (Kovacova et al., 2020), une espèce d'origine d'Asie centrale, de la Chine occidentale, d'Iran et du Caucase, mais aussi elle est plantée pour une raison commerciale dans les régions à climat chaud. L'abricot renferme un noyau dur contenant une seule grosse graine, ou amande (Aamazadeh et al., 2020). De par leur richesse en polyphénols, caroténoïdes, amygdalines, ... (Moradi et al., 2017), l'amande d'abricot est pourvue de propriétés antioxydantes, anticancéreuses, antiasthmatiques, anti-inflammatoires (Li et al., 2016 ; Kopčková et al., 2017).

L'objectif de cette étude, serait une contribution à l'évaluation des effets toxiques particulièrement sur le cerveau (striatum et hippocampe) et le foie chez le rat exposé au THI, en utilisant deux fenêtres d'exposition à savoir, la fenêtre adulte et la fenêtre gestationnelle et lactationnelle. Ajouté à cela, la recherche d'effet cytoprotecteur de l'extrait hydroalcoolique des amandes amères des noix d'abricot.

Cette étude renferme deux parties à savoir :

- Une partie de l'état de l'art de la question posée, utilisant des données bibliographiques récentes,

- Une deuxième partie expérimentale renfermant les travaux suivants :
 - Étude phytochimique de l'extrait des amandes d'abricot *Prunus armeniaca* L.
 - Evaluation des effets toxiques de THI sur les régions du cerveau (striatum et l'hippocampe) via une exposition chronique chez le rat adulte
 - Evaluation des effets neurotoxiques de première génération de rats après une exposition gérationnelle et lactationnelle des rates au THI.
 - Étude neurocomportementale et cognitive des rats exposés au THI.
 - Evaluation de l'hépatotoxicité de THI en exposition chronique.
 - Étude préventive des effets cytoprotecteurs de l'extrait des amandes d'abricot *Prunus armeniaca* L.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1

Généralités sur les pesticides

1. Généralités sur les pesticides

1.1. Définition des pesticides

Le mot « pesticide » est un terme générique dérivé du mot « Pest = ravageur, pouvant être tout organisme vivant (virus, bactéries, champignons, herbes, vers, mollusques, insectes, rongeurs, mammifères, oiseaux) ». Ainsi, les pesticides sont des substances ou des mélanges de substances utilisés dans le but de prévenir, combattre ou éliminer les ravageurs, les vecteurs de maladies humaines ou animales, ainsi que les espèces végétales ou animales nuisibles ou indésirables lors de la production, de la transformation ou du l'entreposage de produits agricoles (**Jeyaratnam, 1990 ; Akashe et al., 2018**). Selon les résultats de plusieurs études, les pesticides sont accusés d'être d'une nocivité redoutable et d'effets délétères sur l'environnement en raison de leur dispersion et contamination des matrices alimentaires qui atterrissent dans les plats des populations humaines (**Bagri and Jain, 2019**). En effet, ces polluants sont susceptibles de provoquer plusieurs changements biochimiques, génétiques chez l'homme tels que des mutations des gènes, l'inhibition ou l'activation des enzymes, les perturbations neuronales et endocriniennes, ajouter à cela les altérations cellulaires ou sub-organelles des différents organes, en l'occurrence le foie, les reins, l'immunité,... (**Galdíková et al., 2015**).

1.2. Classification

D'une manière générale, les pesticides sont couramment classés en trois principales façons : en fonction de leur cible, de leur structure chimique et en fonction de leur mode de pénétration dans le cible :

1.2.1. Selon leurs cibles

Ce système de classement repose sur la nature de la cible à contrôler. Ils sont divisés en herbicides qui servent à éliminer les plantes indésirables pouvant nuire aux rendements (**Yadav and Devi, 2017**), les fongicides, ils sont des produits destinés à lutter contre les champignons microscopiques comme la tavelure de la pomme (**Guler et al., 2010**), de plus les rodenticides agissant pour la dératisation et la préservation du bois. Les biocides, une classe utilisée pour lutter contre les moisissures (**Jabot, 2017**). Et en fin, les insecticides qui sont des substances qui tuent, éliminent ou contrôlent les insectes nuisibles pour les plantes et les animaux (**Hsu et al., 2018**).

1.2.2. Selon le mode de pénétration dans le cible

On trouve, les pesticides systémiques qui sont absorbés et transférés dans tous les tissus non traités des plantes ou des animaux, par contre les pesticides non-systémiques, appelés également pesticides de contact, car ils agissent sur les ravageurs ciblés lorsqu'ils entrent en contact. D'autres classe sont ; les empoisonnements de l'estomac, qui sont tous ceux pouvant pénétrer dans le corps du ravageur par la bouche et le système digestif et provoquant la mort par empoisonnement. Aussi les fumigants, qui sont des pesticides formant des gaz toxiques lorsqu'ils sont appliqués sur leurs cibles où ils pénètrent dans l'organisme des ravageurs par inhalation. La dernière classe est répulsif, ils ne tuent mais sont suffisamment désagréables pour éloigner les ravageurs des zones ou produits traités (Yadav and Devi, 2017).

1.2.3. Selon la composition chimique et la nature des ingrédients actifs.

On trouve : les organophosphorés (OP) ; ces composés sont des dérivés de l'acide phosphorique, où les atomes d'hydrogène sont remplacés par des radicaux organiques tels que les groupes méthyle, éthyle ou phényle (Testud and Grillet, 2007), les organochlorés (POC) également appelés hydrocarbures chlorés sont des composés organiques qui comportent cinq atomes de chlore ou plus (Abubakar et al., 2020), les carbamates sont des N-méthyle carbamates dérivés d'un acide carbamique et provoquent la carbamylation de l'acétylcholinestérase au niveau des synapses neuronales et des jonctions neuromusculaires (Silberman and Taylor, 2020). De plus les pyréthrinoïdes sont des composés synthétiques analogues avec les alcaloïdes naturels tels que les pyréthrines I et II, la cinérine I et II, ainsi que la jasmoline I et II. Ils sont des insecticides polyvalents qui agissent à la fois par contact et par ingestion (Testud and Grillet, 2007). Et enfin, les néonicotinoïdes qui sont une nouvelle classe d'insecticides, sont des analogues de la nicotine, ciblant la transmission cholinergique, et deviennent la classe la plus utilisée dans le monde à cause de leur efficacité exceptionnelle et leur action systémique (Blottière, 2020).

1.3. Exposition aux pesticides

L'exposition aux pesticides peut se produire via la voie orale, cutanée, oculaire ou par inhalation (Damalas and Coutrouba, 2016 ; Kim et al., 2017). Les individus peuvent être exposés aux pesticides par des voies directes et indirectes. L'exposition directe se produit aux personnes qui appliquent personnellement des pesticides dans le milieu professionnel ou résidentiel et est susceptible d'entraîner les niveaux les plus élevés d'exposition, tandis que les expositions indirectes se produisent par l'eau potable, l'air, la poussière et des aliments, et

représentent des voies d'exposition à long terme, généralement de faible dose (Alavanja et al., 2004 ; Anderson and Meade, 2014) (figure 1)

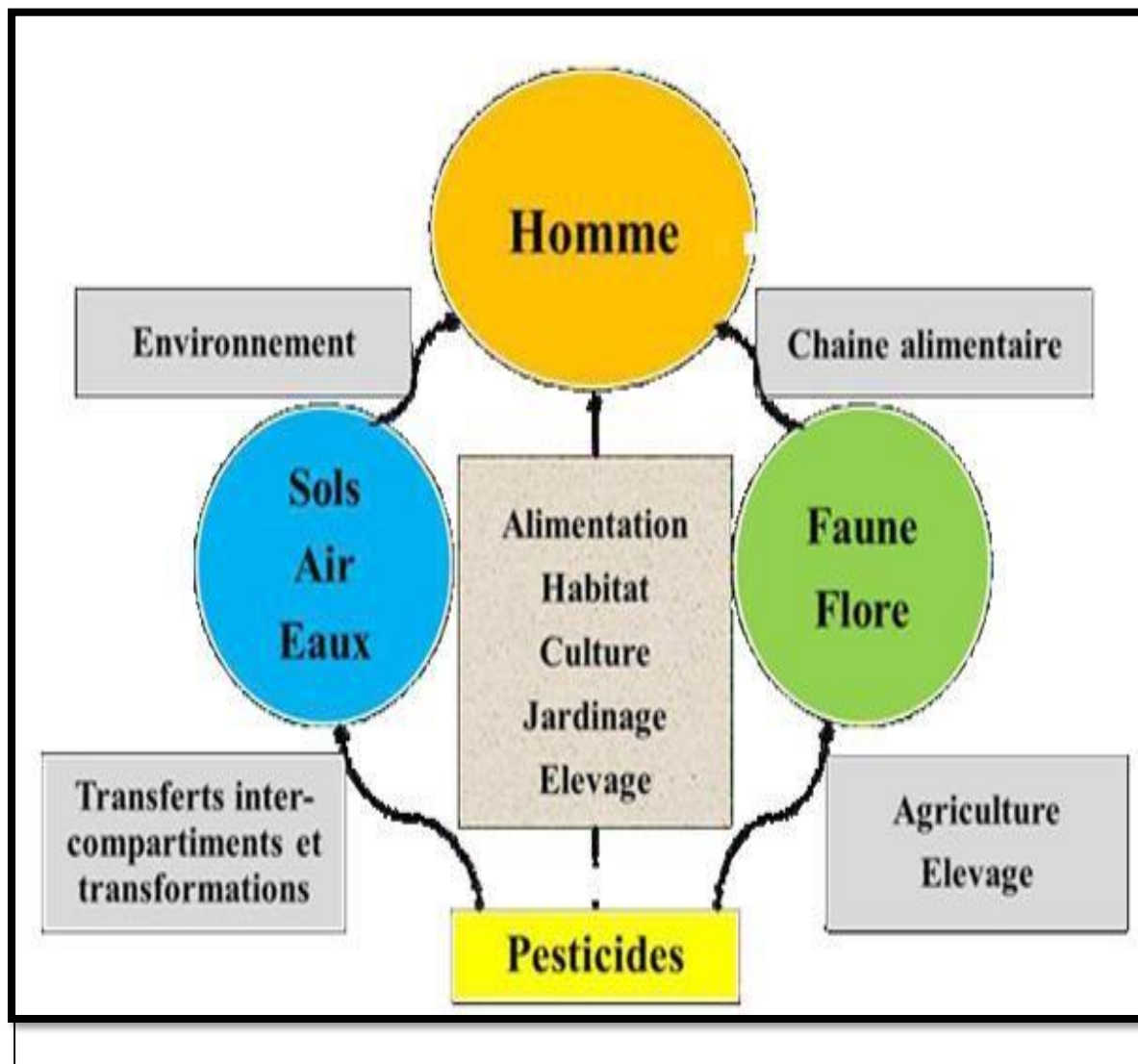


Figure 1. Mode d'exposition des organismes vivants aux pesticides (Barriuso, 2004)

1.4. Devenir des pesticides dans l'environnement

Chaque année des milliers de tonnes des pesticides sont appliquées sur les cultures de la planète. Où, ils sont destinés contre des groupes particuliers d'organismes, mais enivrent 95% de ces pesticides pouvaient avoir un impact sur les organismes non ciblés et de se disperser largement dans l'environnement (Van Der Werf, 2016). Leur devenir dans ce dernier, c'est à dire leur rétention, leur transport et leur dégradation dépend de leurs propriétés ainsi que celles des différents compartiments concernés (le sol, les eaux et l'atmosphère) (Calvet, 2005).

La dynamique environnementale des pesticides peut se produire par exemple, par une partie des molécules peuvent être dispersée dans l'atmosphère, ne parvenant pas à atteindre la cible initiale et restant dans le compartiment atmosphérique. Ou, par les gouttelettes ou les vapeurs de ces polluants qui peuvent être entraînées par le vent hors des zones cultivées. Après avoir été déposés à la surface du sol ou des plantes, des phénomènes de réémission et de volatilisation peuvent se produire, résultant de l'évaporation de l'eau ou de l'action du vent.

Au niveau du sol, le relargage de molécules à partir de granulats et d'agrégats est l'un des processus clés qui influence la dynamique des pesticides. L'eau joue un rôle crucial dans ces transferts, que ce soit par ruissellement en surface, ruissellement souterrain ou drainage profond vers les nappes phréatiques. Où les pesticides transférés peuvent être emportés sous forme de solutés ou liés à des particules ou des colloïdes auxquels ils sont adsorbés ou incorporés (Serra et al., 2016) (Figure 2).

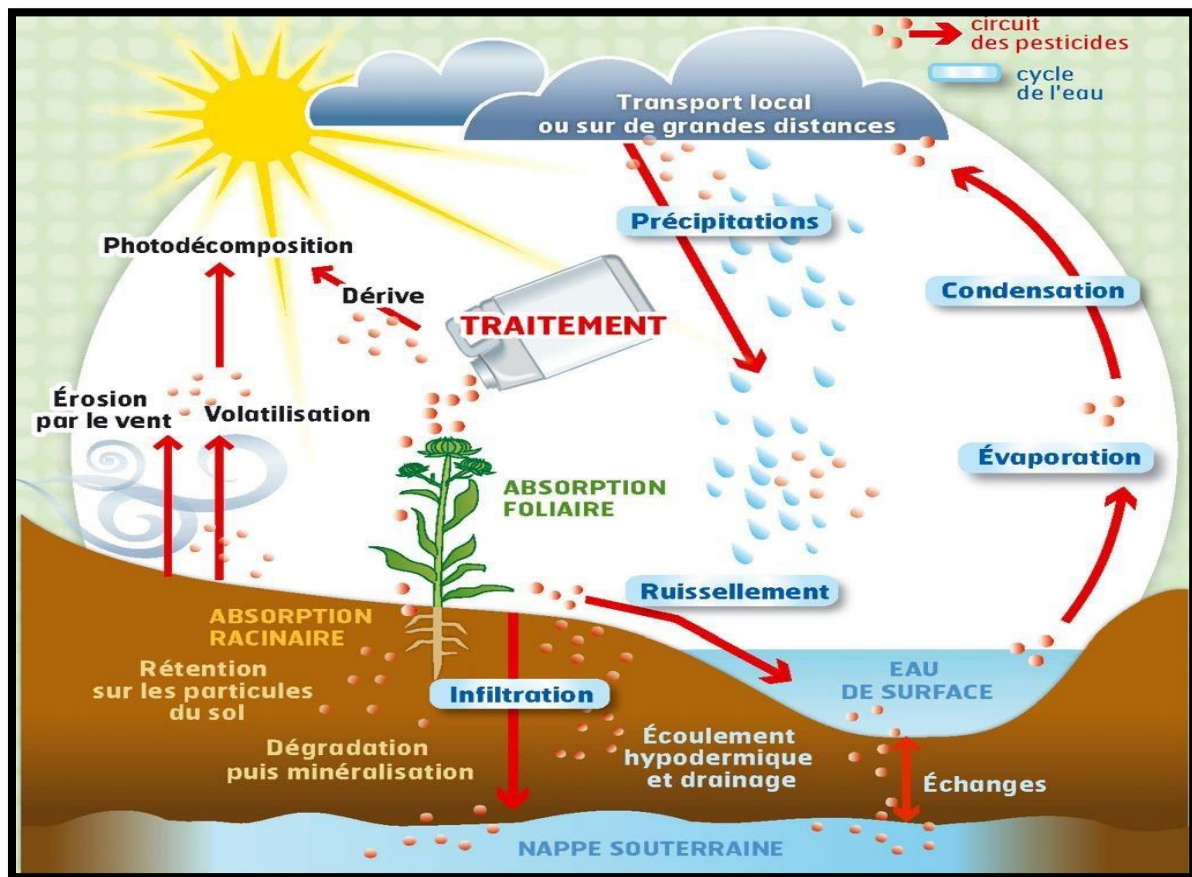


Figure 2. Devenir des pesticides dans l'environnement (Serra et al., 2016).

1.5. Toxicité des pesticides

La plupart des pesticides sont connus pour leur grande persistance et leur bioaccumulation dans divers milieux environnementaux, y compris l'air, l'eau et le sol. Par conséquent, les humains qui sont exposés à ces pesticides provenant de différentes sources, peuvent contracter

plusieurs types de maladies graves telles que les cancers, les malformations congénitales, le dysfonctionnement immunitaire, les troubles respiratoires, les troubles neurocomportementaux et reproductifs (**Hernandez et al., 2013 ; Mostafalou and Abdollahi, 2013**).

1.6. Néonicotinoïdes

1.6.1. Généralité

Les néonicotinoïdes sont des insecticides, développés à la fin des années 1970, pour remplacer les insecticides organophosphorés et carbamates (**Chen et al., 2014 ; Ensley, 2018**). Ils ont une action neurotoxique sur le récepteur nicotinique de l'acétylcholine (nAChR) des invertébrés et des vertébrés (**Bagri et al., 2015**), qui joue un rôle crucial dans la transmission synaptique dans le système nerveux central (SNC) des insectes (**Buszweski et al., 2019**). Ces composés chimiques sont extrêmement efficaces pour combattre les insectes nuisibles tels que les pucerons, les aleurodes, les cicadelles, les thrips, les microlépidoptères et divers coléoptères qui se nourrissent de plantes (**Jeschke et al., 2011**), grâce à leur haute efficacité, leur protection de longue durée, leurs multiples voies d'application et leur systémicité qui lui permet d'atteindre tous les tissus des végétaux (**Blottière, 2020**). Actuellement les néonicotinoïdes se subdivisent en trois groupes : les chloropyridiniques qui contiennent l'imidaclopride, nitenpyram, acétamipride et THI. Et le deuxième groupe renfermant les chlorothiazolyliques qui sont composées de thiaméthoxame et clothianidine, et le troisième groupe le tétrahydrofurane (dinotéfurane) (**Pang et al., 2020**) (**Figure 3**).

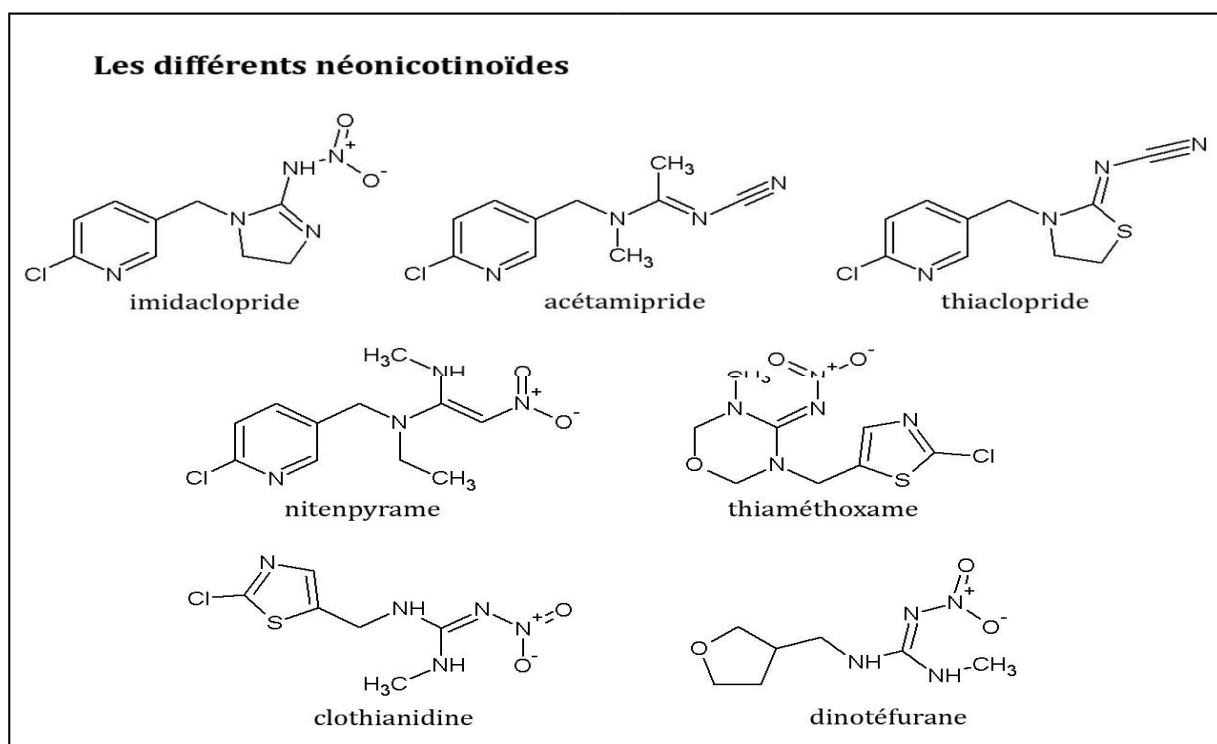


Figure 3. Les différents néonicotinoïdes (Ueyama et al., 2014).

1.6.2. Mode d'action des néonicotinoïdes

Les néonicotinoïdes agissent sur les récepteurs de l'acétylcholine (nAChRs) de manière ciblée en tant qu'inhibiteurs compétitifs, perturbant la transmission des signaux le long des membranes synaptiques du système nerveux. Cette action est attribuée à leur composé principal, qui présente des similitudes avec la nicotine, laquelle est connue pour être un agoniste non hydrolysable de l'acétylcholine. Ces néonicotinoïdes restent fixés au récepteur empêchant ainsi sa fermeture, et donc l'action du signal cholinergique reste maintenue en créant une hyperpolarisation de la cellule entraînant une dépolarisation continue produisant une convulsion et une paralysie causant la mort de l'insecte (Ahmed et al., 2015 ; Paquet- Walsh, 2018) (**Figure 4**).

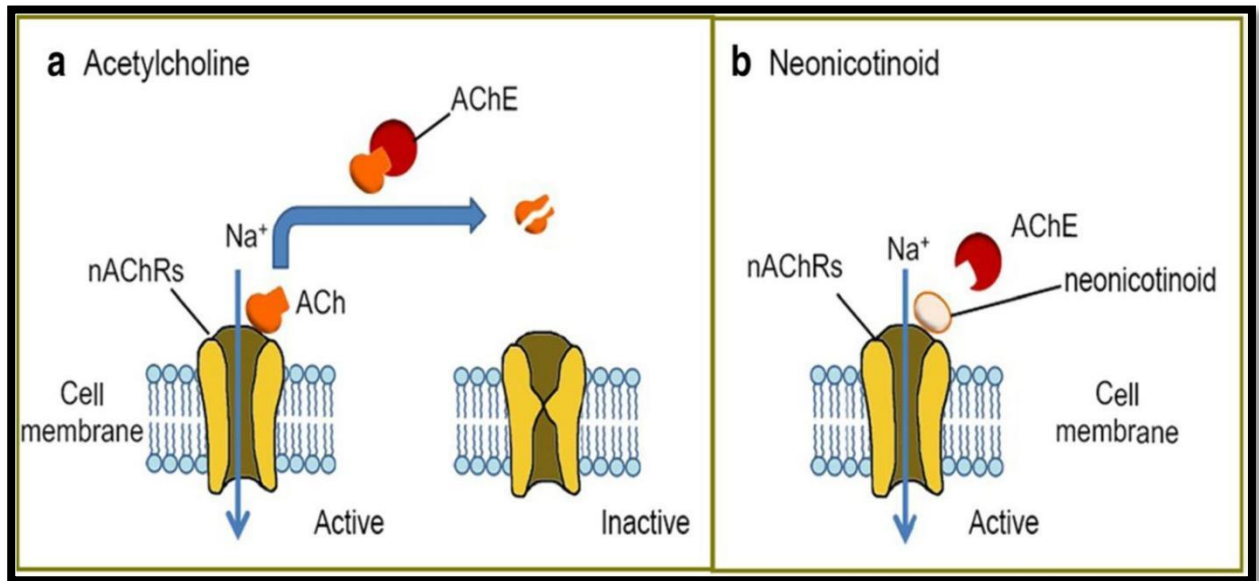


Figure 4. Mode d'action des néonicotinoïdes (Buszweski et al., 2019).

1.6.3. Toxicité des néonicotinoïdes

La faible biodégradation des néonicotinoïdes par les organismes non cibles tels que l'homme et l'animal, conduit à leur accumulation dans les différents tissus, et particulièrement dans les tissus adipeux de par leur liposolubilité, exprimée par une persistance qui va causer des toxicités diverses dans l'organisme vivant.

- **Sur la reproduction**

Une étude menée sur des rats femelles, a montré des changements morphologiques significatifs dans les follicules antraux et follicules atrétiques avec diminution du poids ovarien dans le groupe traité avec une concentration de 20 mg / kg / jour d'imidaclopride. De plus, cette dose a produit des modifications significatives des taux de LH, FSH et progestérone (Hafez et al., 2016). Dans une autre étude ayant traité des rats à de faibles doses (0.5, 2 et 8 mg / kg / jour) d'imidaclopride par gavage pendant 3 mois, le poids de l'épididyme, les taux du sperme et la testostérone étaient diminués chez tous les rats traités (Bal et al., 2012).

- **Hépatotoxicité**

Les résultats d'une autre étude sur l'exposition des rats à 45mg et 9 mg / kg / jour de l'imidaclopride pendant quatre semaine ont permis d'observer des changements histologiques comprenant la dégénérescence des hépatocytes, dilatations de la veine centrale et augmentation des enzymes hépatiques (Bhardwaj et al., 2010 ; Toor et al., 2013). Bien avant, les travaux de Mondal et al. (2009) ont montré une hyperbilirubinémie chez les rats traités par l'acétamipride avec les doses de 25, 100 et 200 mg/kg/jour pendant 28 jours.

- **Neurotoxicité**

Des études antérieures ont également révélé que l'exposition à l'imidaclopride (45 et 90 mg / kg de poids corporel) pendant 28 jours a entraîné une diminution significative de l'activité locomotrice chez le rat (**Lonare et al., 2014**). Aussi des rats ayant reçu des fortes doses de thiaméthoxame (50 ou 100 mg / kg) pendant 7 jours consécutifs ont également montré une augmentation du comportement anxieux, ce qui peut être corrélé à une diminution de l'activité de l'acétylcholinestérase (**Rodrigues et al., 2010**).

- **Effet des néonicotinoïdes sur le système antioxydant**

Les travaux de **Lonare et al. (2014)** ont montré une augmentation des activités de la GPX et la GST après l'administration de l'imidaclopride avec deux doses 45 et 90 mg/kg.

- **Effet des néonicotinoïdes sur d'autres systèmes organiques**

Il s'avère que les néonicotinoïdes sont des perturbateurs endocriniens, car le traitement des rats à des différentes doses de THI a induit une augmentation des taux sériques de triiodothyronine 3 et de triiodothyronine 4 libres (**Sekeroglu et al., 2014**). Une étude in vitro suggère que l'imidaclopride a augmenté le développement de la résistance à l'insuline (**Kim et al., 2013**), et également une accumulation de graisse chez les animaux de laboratoire (**Park et al., 2013**). De plus après l'administration d'imidaclopride à des doses (10, 5 et 2.5 mg / kg pendant 28 jours) pour évaluer l'effet immunomodulateurs de cet insecticide, il a été constaté qu'il avait un potentiel immunosuppresseur en induisant une diminution du niveau tissulaire des cytokines et les interleukines dans la rate et le foie (**Badgujar et al., 2013**).

1.7. Etude de Thiaclopride (THI) (membre de la famille des néonicotinoïdes)

1.7.1. Généralité

Le THI (N-[3-(6-chloro-pyridin-3-ylméthyl)-thiazolidin-2-ylidène] cyanamide) est un insecticide appartenant à la famille des néonicotinoïdes chloropyridinylméthylthiazolidinylidènes (**Galdikova et al., 2019**). Il a été enregistré en 2000 par la société BAYER CropScience qui l'a produit sous le nom commercial Calypso 480SC (480 g.L⁻¹) (**Schwarzbacherová et al., 2019**). Son mode d'action après sa fixation sur les nAChRs, est la polarisation continue des membranes post-synaptiques des neurones cholinergiques conduisant à la neurotransmission non-stop de l'influx nerveux (**Galdikova et al., 2019**). Le THI est utilisé pour la protection des fruits, des vignes, des légumes et des plantes

ornementales contre les insectes suceurs et voraces (Schwarzbacherova et al., 2019) (Figure 5)

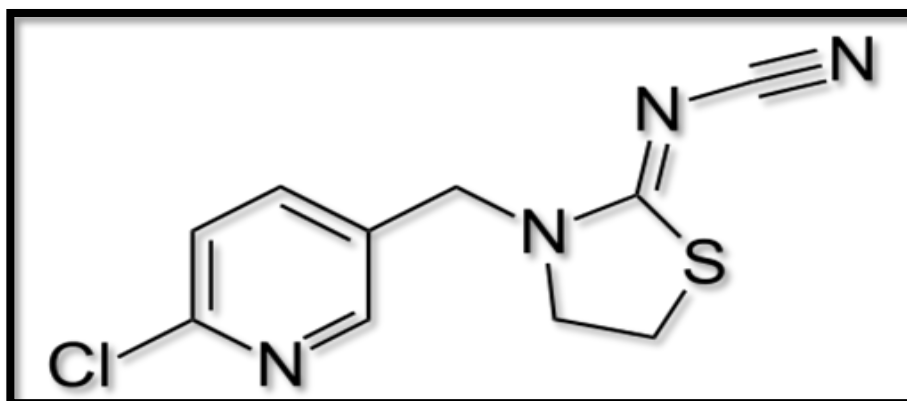


Figure 5. THI (Shimada et al., 2020)

1.7.2. Caractéristiques physico-chimiques de THI

Les propriétés chimiques sont résumées dans ce **tableau 1**

Tableau 1. Les propriétés chimiques du thiaclopride (calypso (480 g/l) (Hopewell et al., 2017).

Le nom commercial	CALYPSO 480SC
Formule	C ₁₀ H ₉ ClN ₄ S
Masse molaire	252,72 g/mol
Densité	1.46 g à 20 °C
Solubilité dans l'eau	185 mg/L à 20 °C
pH	7.4 à 20 °C
Affinité dans le sol (log K _{oc})	3,67
Persistance dans le sol (DT50 jour)	9-27
Photolyse dans l'eau	10-63
Lipophilie (log K _{ow})	1,26
La demi-vie pour la photolyse	80 j au pH de 7
La demi-vie dans le sol	19.1 jours

1.7.3. Valeurs de toxicité de THI

- **Dose journalière admissible (DJA)** : est de 10 µg/kg/j ;
- **Dose sans effet nocif observable (NOAEL)** chronique (90 j) est de 7.3-7.6 mg/kg/j chez le rat ;
- **Dose de la toxicité aiguë** par voie orale chez le rat est de > 56 mg/kg ;
- **Dose de référence aiguë (ARFD)** est de 0.03 mg/kg (Leboffe et al., 2020).

1.7.3.1. Toxicocinétique de THI

Selon l'une de littérature consultée (Marrs, 2012), le THI est facilement absorbé après des doses orales uniques chez le rat et les concentrations plasmatiques maximales sont atteintes en 1 à 3 heures après une faible dose, et en 3 à 4 heures après une dose élevée. Il est également distribué dans l'organisme et ses résidus peuvent rester plus de 48 heures. Les concentrations des résidus de THI les plus élevés se trouvent dans le foie, et les concentrations minimales sont dans les tissus tels que le cerveau et la moelle osseuse. Selon toujours cette référence, le THI est métabolisable, dont les principales voies étant l'hydroxylation C et N, l'oxydation et la méthylation, le clivage du cycle oxydatif et le clivage du pont méthylène, suivies par la conjugaison d'acide glucuronique, de glycine et de sulfate de pentose. Selon toujours cette référence suscitée le THI est éliminé principalement dans les urines et dans les fèces sous formes de plusieurs dérivés comme l'acide chloronicotinique et d'autres métabolites. Il faut dire que la bioaccumulation et la vitesse d'élimination de THI et ses dérivés restent un sujet controversé entre les auteurs. En effet, d'autres travaux ont rapporté certaines évidence sur la bioaccumulation de THI, tels que les travaux de **Xu et al. (2021)** qui ont montré une persistance avérée de cet insecticide, dont le THI a été accumulés dans différents tissus (foie, reins, cerveau) par rapport à d'autres néonicotinoïdes grâce à son comportement lipophile plus élevé, son hydrosolubilité moyenne (7,52–11,53 de solubilité dans l'eau LogK_{oc}, et le coefficient de partage octanol-eau (K_{ow}) à 0,80–1,26 de LogK_{ow}), de plus, les travaux de **Wang et al. (2018)** ont montré que le THI résiste à la dégradation et au métabolisme, où son groupe nitrile forme des liaisons covalente avec la sérine et la cystéine des protéines dans certains métabolisme, ces liaisons sont améliorant son affinité aux organes (**figure 6**).

Selon d'autres bases de données concernant la distribution du THI, pendant la gestation, cet insecticide est éliminé lentement dans le compartiment maternel, avec une clairance plasmatique maternelle de 42,7 ml/kg.h. Sa demi-vie d'élimination est de 9,6 heures. Le volume de distribution est élevé, avec une moyenne de 620 mL/kg. Alors que, dans le compartiment

foetal, le THI est rapidement éliminé, avec une clairance plasmatique de 1035 à 1717 mL/kg.h et une demi-vie plasmatique évaluée à 0,28 et 0,4 heure chez deux foetus différents (Hagen, 2019).

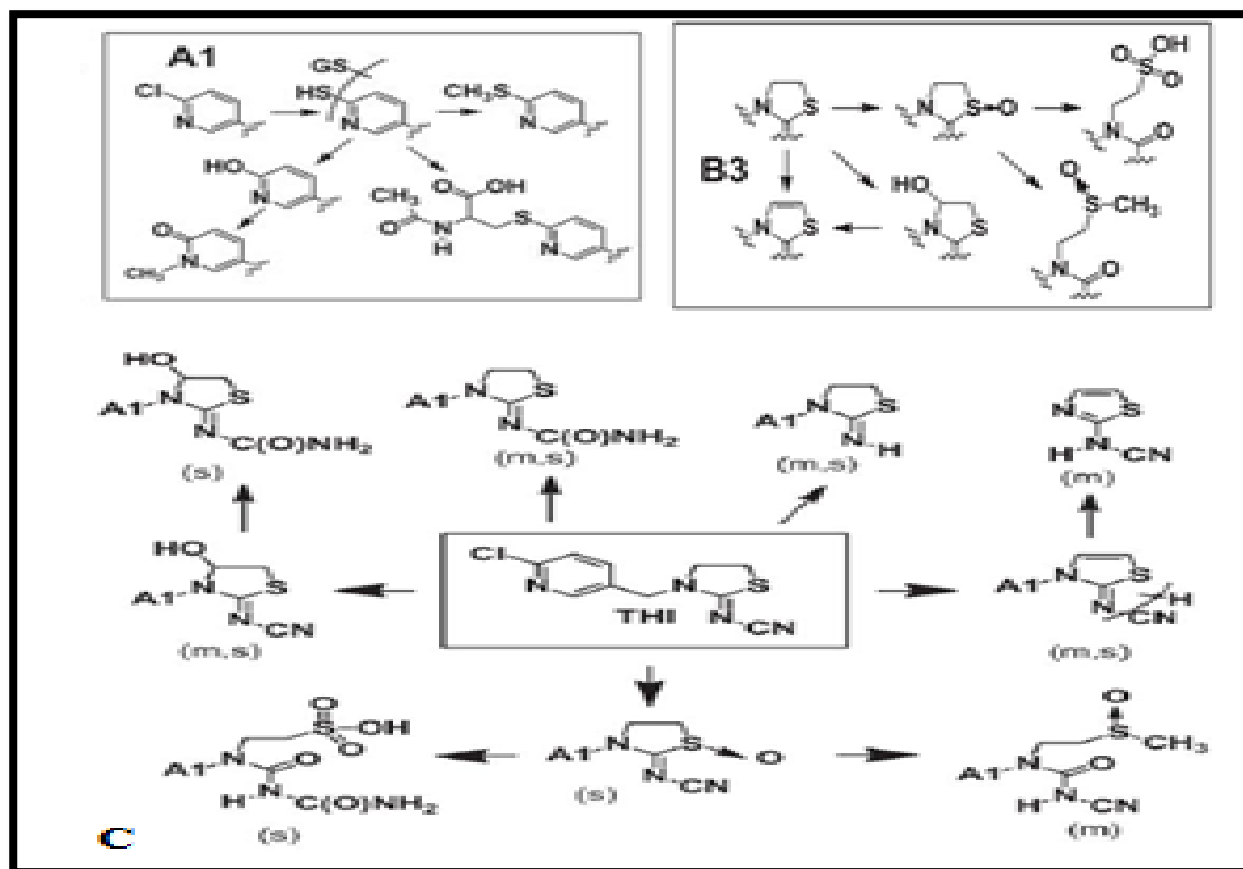


Figure 6. A1 : Modification supplémentaire de la substituants chloropyridinyle de THI, B3 : modification métabolique des substituants acrylique et hétérocyclique de THI, C : Voie métabolique de THI chez les souris (m) et l'épinard (S)(C : THI est converti aux dérivés 4-hydroxy, oléfine et sulfoxyde. Le sulfoxyde clive au composé à cycle ouvert, qui subit une méthylation avec sulfoxydation en méthylsulfoxyde. Alternativement, l'acide sulfénique clivé est oxydé en acide sulfonique. Clivage ou l'hydrolyse de la liaison N-CN donne le descyano et Dérivés de N-carbamoylimine, respectivement) (Casida, 2011)

1.7.3.2. Toxicodynamique de THI

- **La toxicité sur la thyroïde**

Des doses répétées de THI entraînent une augmentation de l'incidence des tumeurs thyroïdiennes et de l'hypertrophie épithéliale folliculaire chez le rat. Aussi dans la même référence le traitement des rats avec le THI pendant 24 h et 30 jours, ont montré une augmentation de triiodothyronine 3 et triiodothyronine 4 (Şekeroğlu et al., 2014).

- **Génotoxicité**

Les travaux de Şekeroğlu et al. (2014) ont montré, après le traitement des rats avec deux doses de THI : 112,5 mg / kg pendant 24h et 22,5 mg / kg / jour pendant 30 jours, une

augmentation de la formation de micronoyaux dans les cellules binuclées. Dans une autre étude *in vitro*, le traitement des lymphocytes des bovins avec le THI à des concentrations de 30, 60, 120, 240 et 480 mg / mL, a révélé une augmentation des fréquences de dommages de l'ADN et les aberrations chromosomiques instables à ces deux concentrations 120 à 480 mg / mL (**Galdikova et al., 2015**). La génotoxicité du THI a également été confirmée chez l'homme au niveau des lymphocytes sanguins, y compris une diminution de l'indice de division nucléaire, de l'indice de prolifération et l'indice mitotique à toutes les concentrations (75, 150 et 300 mg / L de THI) (**Kocaman et al., 2014**).

- **Embryotoxicité**

D'après une étude *in vitro*, la présence du produit commercial CALYPSO 480SC (THI) avec une concentration de 0,0053 µL / mL indique que cet insecticide a un effet préimplantatoire qui peut influencer négativement sur le développement et la formation normale d'embryon, ainsi qu'une diminution dans l'activité de la prolifération cellulaire et une augmentation de l'apoptose dans les blastocystes obtenus (**Babel'ová et al., 2017**).

1.7.4. Passage de THI sur la barrière hémato-encéphalique

Les néonicotinoïdes manifestent certaines toxicités chroniques chez les mammifères qui sont dues à une faible pénétration de ces insecticides via la barrière hémato-encéphalique (BHE) (**Selvam and Srinivasan, 2019**). Le THI a une abondance résiduelle élevée, grâce à leur lipophilie plus élevée avec une hydrosolubilité moyenne (**Xu et al., 2021**). Une étude plus récente sur des souris a bien montré que les néonicotinoïdes (imidaclopride, nitenpyram, THI, acétamipride) traversent facilement la BHE et que les concentrations sont détectables dans le cerveau dans les 15 minutes qui suivent l'exposition, aussi après une injection intra-péritonéale de 10mg/kg (imidaclopride, THI et acétamipride) à des souris mâles, les résultats enregistrent 16 µg/g de THI dans le cerveau de ces animaux (**Anadón et al., 2020**).

1.7.5. Passage placentaire

Selon les études consultées, le THI est éliminé lentement de la circulation sanguine maternelle, où il est resté détectable après son administration à la fois dans le compartiment maternel et fœtal pendant au moins 72 heures. Les concentrations de THI dans le plasma fœtal sont seulement 1,6 à 2,6 fois inférieures aux concentrations maternelles, indiquant un transfert placentaire possible du composé de la mère au fœtus. De plus, environ 69 % de la dose de THI administrée à la mère est transférée au fœtus, donc le fœtus reçoit une dose environ 20 fois plus élevée que celle de sa mère, en fonction de son poids (**Vermot-Desroches, 2019**). De plus, des études sur des fœtus et des rats montrent le passage placentaire des différents néonicotinoïdes,

où l'analyse de 57 échantillons d'urine prélevés dans les 48 heures suivant la naissance chez les nourrissons âgés de 23-24 semaines de gestation a détecté le métabolite N-Desmethyl acetamidrid (DMAP) d'acétamipride dans 14 échantillons d'urine prélevés à la naissances **(Ichikawa et al., 2019)**.

Chapitre 2

Neurotoxicité d THI et bioactivté de l'extrait de *P. armniaca* L.

2. Neurotoxicité de THI après une exposition chronique chez le rat adulte et bioactivité de l'extrait des amandes amères des noix d'abricot *Prunus armniaca* L.

2.1. Neurotoxicité

2.1.1. Généralité

La neurotoxicité est définie comme étant tout effet toxique sur le système nerveux central ou périphérique. Cette toxicité est causée par des xénobiotiques tels que les métaux lourds, les pesticides, les agents biologiques et physiques, ajoutés à cela les produits médicamenteux et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (Costa et al., 2008).

2.1.2. Système nerveux central (SNC)

2.1.2.1. Organisation du SNC

Le système nerveux central est le lieu de traitement et d'intégration des informations sensorielles. Il est constitué de l'encéphale et de la moelle épinière (Peate and Nair, 2017). L'encéphale occupe la cavité crânienne et est l'ensemble des trois structures : le cerveau, le tronc cérébral et le cervelet. La moelle épinière est enfermée dans le canal vertébral qui forme un anneau de protection en os autour de cordon, c'est un centre de réflexe pour le corps, elle transmet aussi les messages provenant des neurones sensoriels au muscles et aux glandes (Peate and Nair, 2015) (Figure 7).

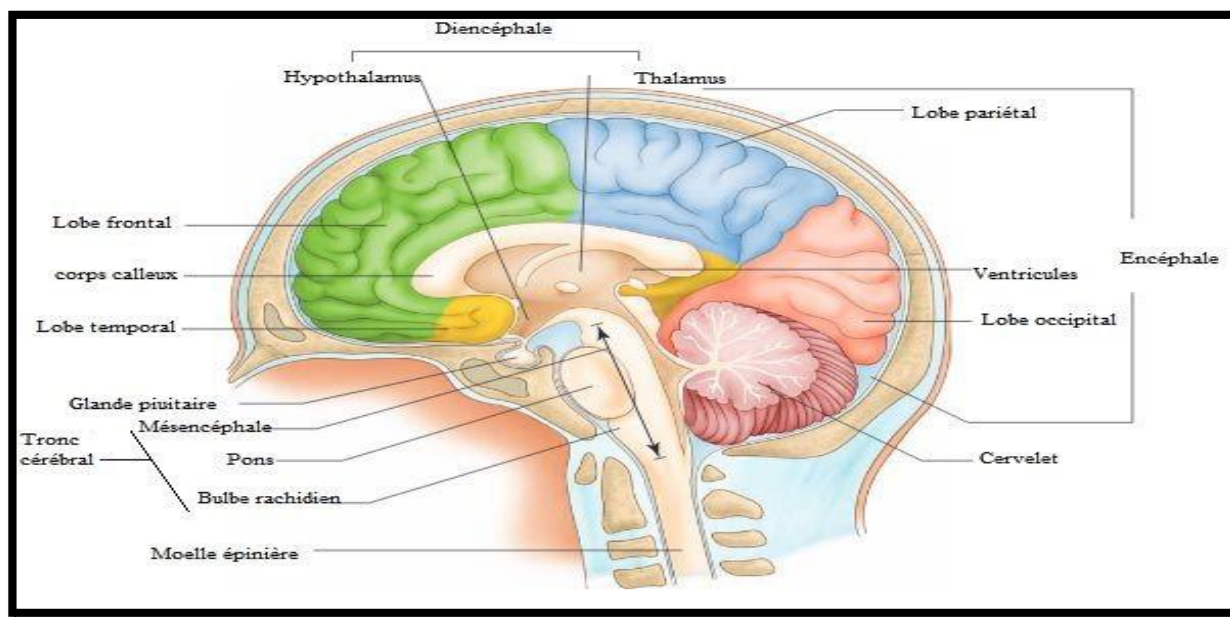


Figure 7. Les majeures parties constituant le système nerveux central (Scot and Fong, 2017).

2.1.2.2. Anatomie du SNC

- **Cerveau** : est la partie supérieure élargie du SNC. Pesant à peu près 1,5 kg, il constitue le centre de contrôle du corps humain, il gère toutes les fonctions (la pensée, les rêves, l'activité sportive, ou le sommeil). Le cerveau est composé de deux hémisphères cérébrales reliés par le corps calleux, chaque hémisphère est divisé en lobes : frontal, pariétal, temporal et occipital, qui contiennent des groupes de neurones effectuant des tâches spécifiques. D'une part le cortex cérébral est constitué d'une couche externe de matière grise composées de plus d'un milliard de neurones. Sous la matière grise se trouve la matière blanche, composée d'axones myélinisés et non myélinisés reliant les neurones de différentes parties du cerveau (**Amerman, 2016**). D'autre part les noyaux gris centraux sont des masses appariées de substance grise dans la substance blanche des hémisphères cérébraux. Leur fonction est certains aspects subconscients du mouvement volontaire et ils aident à réguler le tonus musculaire et coordonnent les mouvements (**Scanlon and Sanders, 2007**).
- **Cervelet** : est la deuxième plus grande région du cerveau. Il se trouve derrière et sous le cerveau. Il a également un cortex externe de matière grise et un noyau interne de matière blanche. Le cervelet fonctionne pour maintenir le tonus musculaire, coordonner les mouvements et contrôler l'équilibre (**Williams and Wilkins, 2009**).
- **Tronc cérébral** : il se situe immédiatement sous le cerveau, juste en face du cervelet et se continue pour se connecter à la moelle épinière ci-dessous (**Williams and Wilkins, 2009**). Il contient des réseaux de neurones qui forment les centres de contrôle des fonctions vitales comme la respiration ou la régulation de la pression sanguine (**Rizzo, 2016**).
- **Diencéphale** : il se trouve entre le mésencéphale et le cerveau. Il est composé de thalamus, subthalamus, métathalamus, épithalamus, hypothalamus et glande pinéale (**Rusoké-dierich, 2018**). Le thalamus est le principal centre de réception des intrants de la périphérie et du tronc cérébral vers le cerveau, c'est le centre d'acquisition des connaissances, de la conscience, de l'émotion et de la mémoire (**Goodman, 2004**). L'hypothalamus est étroitement associé à l'hypophyse est le principale centre d'intégration autonome et fait partie du système limbique qui est le cerveau émotionnel (**Peate and Nair, 2015**).

2.1.2.3. Histologie

- **Neurone** : est un type de cellule hautement spécialisé et l'élément cellulaire essentiel du SNC. Il est constitué d'un corps cellulaire, des dendrites et un axone. Le corps cellulaire

renferme un noyau entouré d'un cytoplasme contenant les organites, c'est la région de synthèse des molécules nécessaires aux activités neuronales. Les dendrites reçoivent l'information provenant d'autre neurone et l'acheminent au corps cellulaire. L'axone transmet le potentiel d'action à un neurone, à un myocyte ou à une cellule glandulaire (Tortora and Derrickson, 2017) (Figure 8).

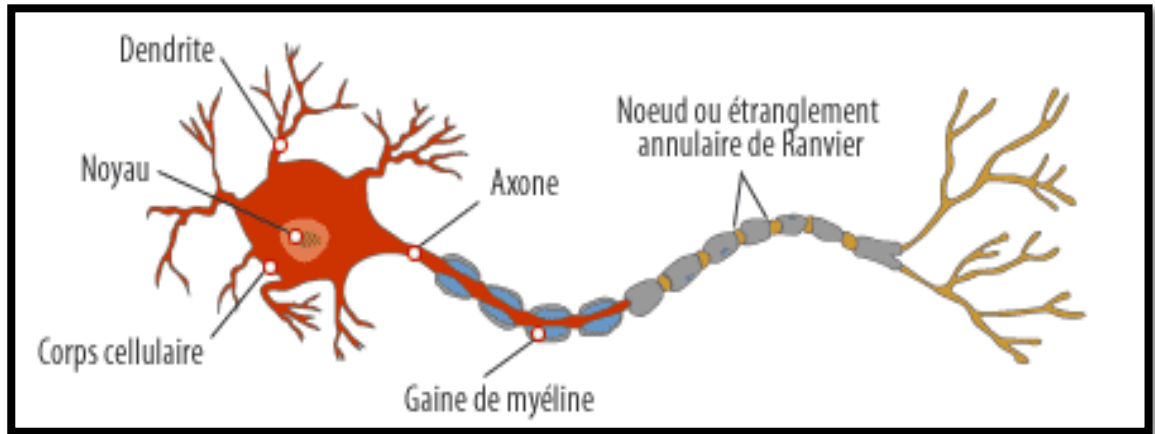


Figure 8. Structure d'un neurone (Raven et al., 2011)

On peut classer les neurones selon leur structure ou leur fonction. La classification selon la structure distribue les neurones en trois groupes principaux en fonction du nombre de prolongements qui émergent du corps cellulaire : les neurones multipolaires, les neurones bipolaires et les neurones unipolaires. Par contre, la classification fonctionnelle repose sur le sens de la propagation de l'influx nerveux par rapport au SNC. On distingue : les neurones sensitifs, les neurones moteurs et les inter-neurones (Wingard and Taylor, 2020) (Figure 9).

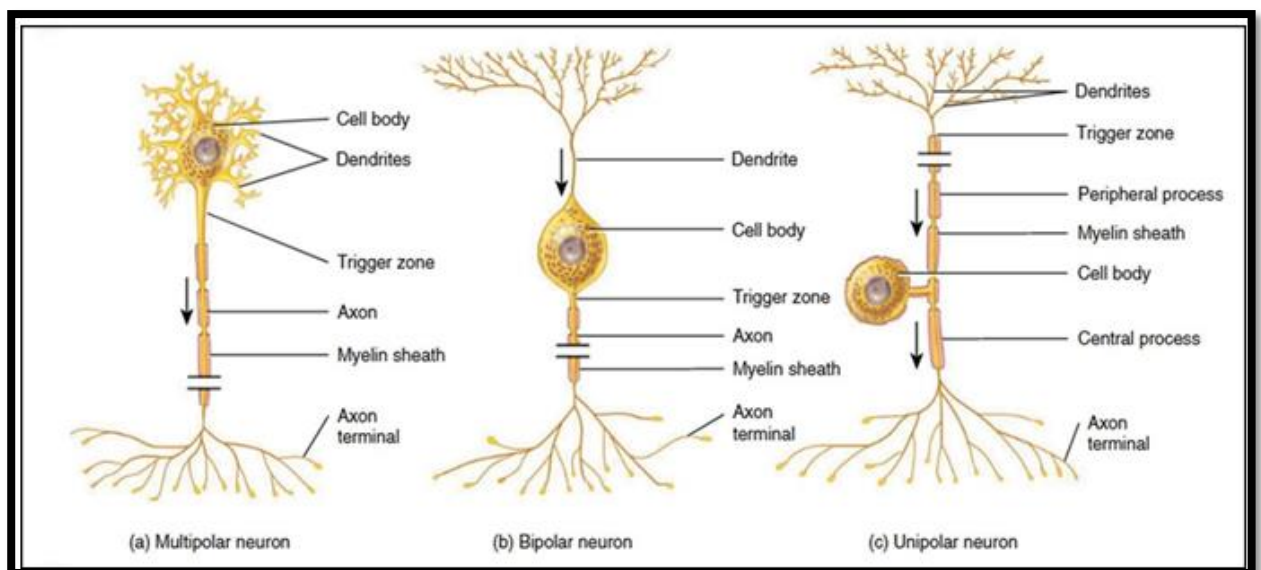


Figure 9. La classification structurale des neurones (Tortora and Derrickson, 2014).

- **Les glyocytes (cellules gliales)** : constituent la moitié du volume du SNC (Martini et al., 2018). Elles sont généralement plus petites et plus nombreuses que les neurones, et elles entourent les neurones et jouent de nombreux rôles par exemple : le transport des nutriments et apportant l'oxygène aux neurones et nettoient les débris cellulaires, le traitement de l'information neuronale et production de la myéline. Il existe six types de glyocytes, quatre se trouve uniquement dans le SNC qui sont les astrocytes, les oligodendrocytes, les microglies et les ependymocytes. Les deux autres types neurolymocytes et cellules satellites sont présentes dans le système nerveux périphérique (SNP) (Tortora and Derrickson, 2017) (Figure 10).

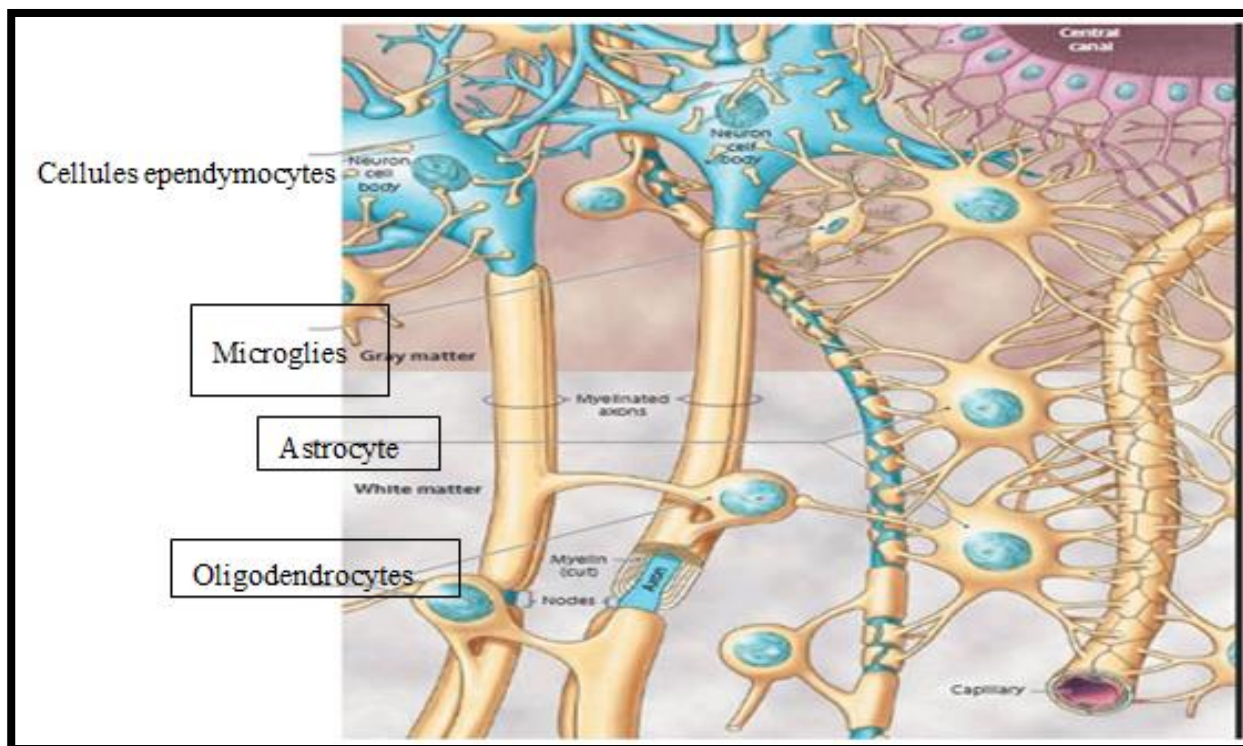


Figure 10. Les cellules gliales du système nerveux central (Martini et al., 2018).

2.1.4. Physiologie régionale du SNC

Le cerveau des mammifères est structurellement organisé en régions anatomiques distinctes exerçant différentes fonctions physiologiques et comportementales spécifiques, elles sont le bulbe olfactif, qui est impliqué dans la détection des odeurs, le cortex préfrontal, qui est important pour le contrôle exécutif à l'aide de striatum, ce dernier étant également impliqué dans l'intégration du mouvement et du traitement des récompenses. L'hippocampe contrôle la formation et la récupération des souvenirs associatifs et épisodiques, le cervelet est impliqué

dans l'apprentissage moteur et la coordination, et contrôle les mouvements physiques appris volontaires (Spijker, 2011).

2.1.4.1. Hippocampe

L'hippocampe est une structure symétrique fait partie du système limbique. Il joue un rôle important dans l'apprentissage et la mémoire (Truc et al., 2013), ainsi que dans le contrôle du stress et de l'anxiété (Rolando and Taylor, 2014). Chez les rongeurs, il est situé dans le lobe temporal médian, juste en dessous de la surface du cortex. Cette région est composée de plusieurs régions, notamment la corne d'Ammon, le gyrus denté, le complexe subiculaire (presubiculum, parasubiculum et subiculum) et le cortex entorhinal.

La corne d'Ammon est subdivisée en trois parties : CA3, CA2 et CA1, et est composée de cinq couches principales : le stratum lacunosum moléculaire (slm), le stratum radiatum (sr), le stratum pyramidale (sp), le stratum oriens (so) et l'alveus. Le gyrus denté (GD) est composé de trois couches cellulaires : la couche moléculaire (ml), la couche des cellules granulaires (SG) et l'hilus (H). Dans l'hippocampe, on trouve principalement deux types de cellules neuronales, à savoir les cellules pyramidales et les cellules granulaires (Legrand, 2016) (Figure 11).

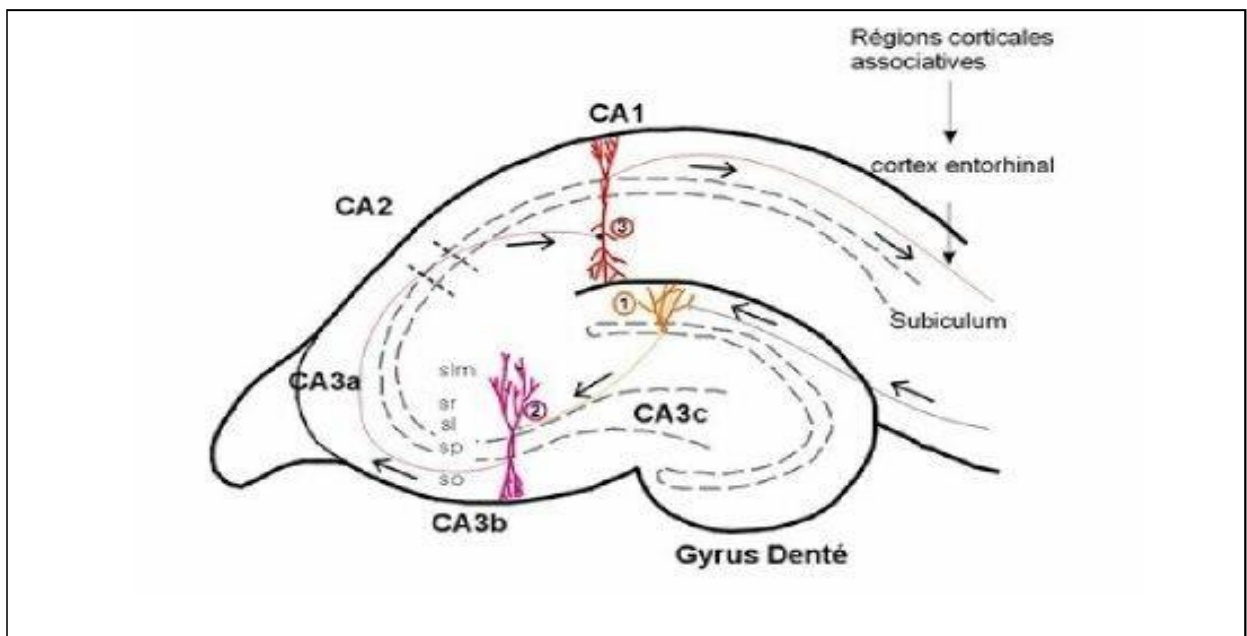


Figure 11. Structure de l'hippocampe (Legrand, 2016)

CA1 : corne d'Ammon 1, Slm : le stratum lacunosum moléculaire, CA2 : corne d'Ammon 2, sr : le stratum radiatum, CA3 : corne d'Ammon 3, sp : pyramidale, So : oriens, Sl : l'alveuse.

- **Les neurones de l'hippocampe**

L'hippocampe est constitué de deux principaux types de cellules neuronales. 90% de ces neurones sont des cellules pyramidales et granulaires, qui sont des neurones excitateurs utilisant le glutamate comme neurotransmetteur. Les 10% restants sont des cellules inhibitrices ou interneurons utilisant le GABA comme neurotransmetteur (Gouny, 2018).

2.1.4.2. Le striatum

Le striatum est une structure cérébrale profonde composée de trois sous territoires, le noyau caudé, le striatum ventral et le putamen. Il est impliqué dans la motivation alimentaire et sexuelle, la gestion des douleurs et la régulation des mouvements involontaires (Burton et al., 2015 ; Martinez et al., 2019) (Figure 12).

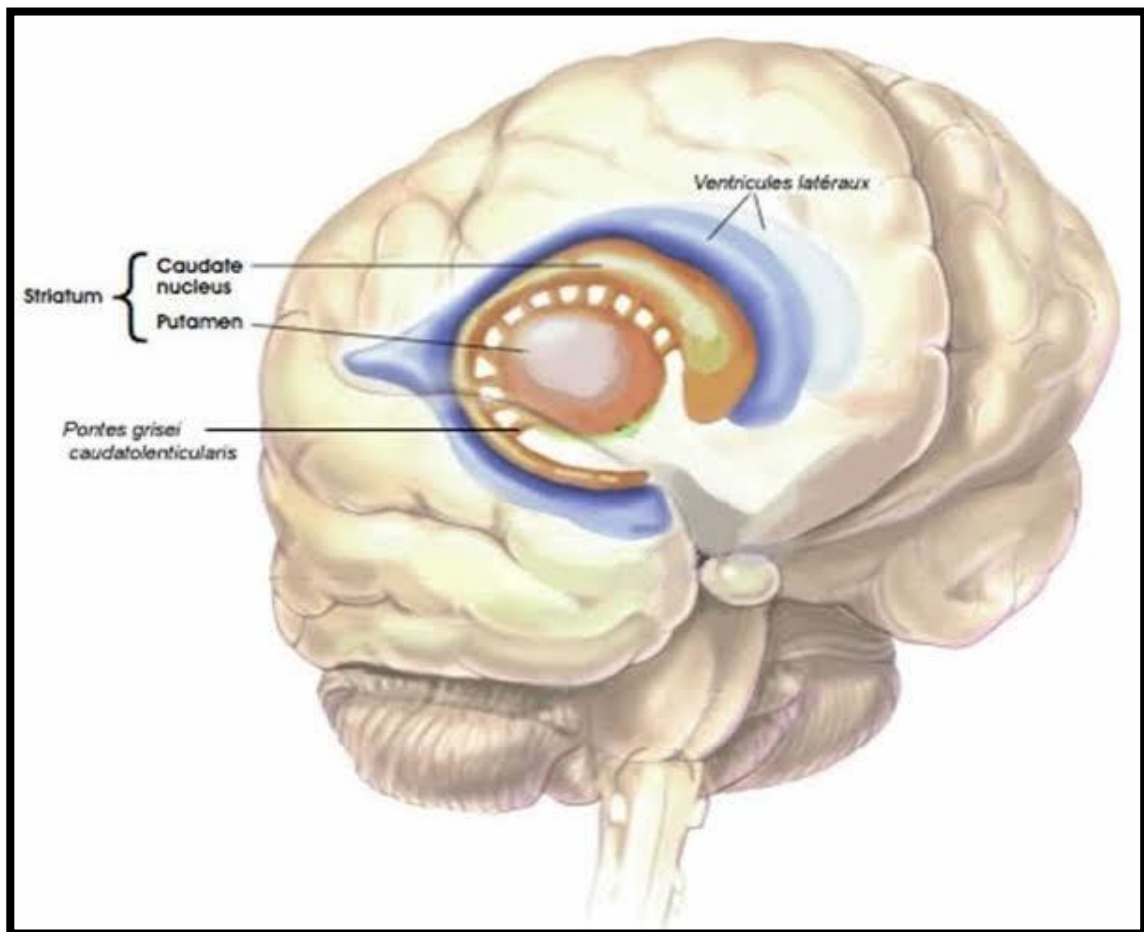


Figure 12. Structure de striatum (Brochier, 2007)

- **Les neurones de striatum**

Les grandes cellules, qui constituent environ 5 % du néostriatum, représentent des sous-populations inter-neuronales (constituées principalement de neurones GABA-ergiques, somatostatiques et acétylcholines). 95% des neurones striataux, forment principalement des neurones efférents et de projection qui sont GABAergiques (Sanberg, 1994 ; Laverne, 2020).

2.1.5. Fonctionnement du système nerveux

2.1.5.1. Le flux nerveux

Les neurones captent un signal électrique au niveau de leurs régions réceptrices (dendrites et corps cellulaire), ce qui entraîne la génération d'un ou de plusieurs potentiels d'action (influx nerveux) qui se propagent le long d'un prolongement appelé axone. Ainsi, l'information nerveuse est transmise à une cellule voisine à travers une jonction spécialisée entre les cellules, appelée synapse (**Pfziger and Reber, 2013**). Quand un potentiel d'action atteint la terminaison synaptique, la dépolarisation active les canaux Ca^{2+} voltage-dépendant situés sur toute la membrane présynaptique, où l'ouverture de ces canaux permettant au Ca^{2+} de pénétrer et activent les protéines sensibles au Ca^{2+} dans la terminaison synaptique. Certaines de ces protéines provoquent la libération par exocytose des vésicules renfermant les neurotransmetteurs, dans la fente synaptique (**Pritchard and Alloway, 2002 ; Pfziger and Reber, 2013**) (**Figure 13**).

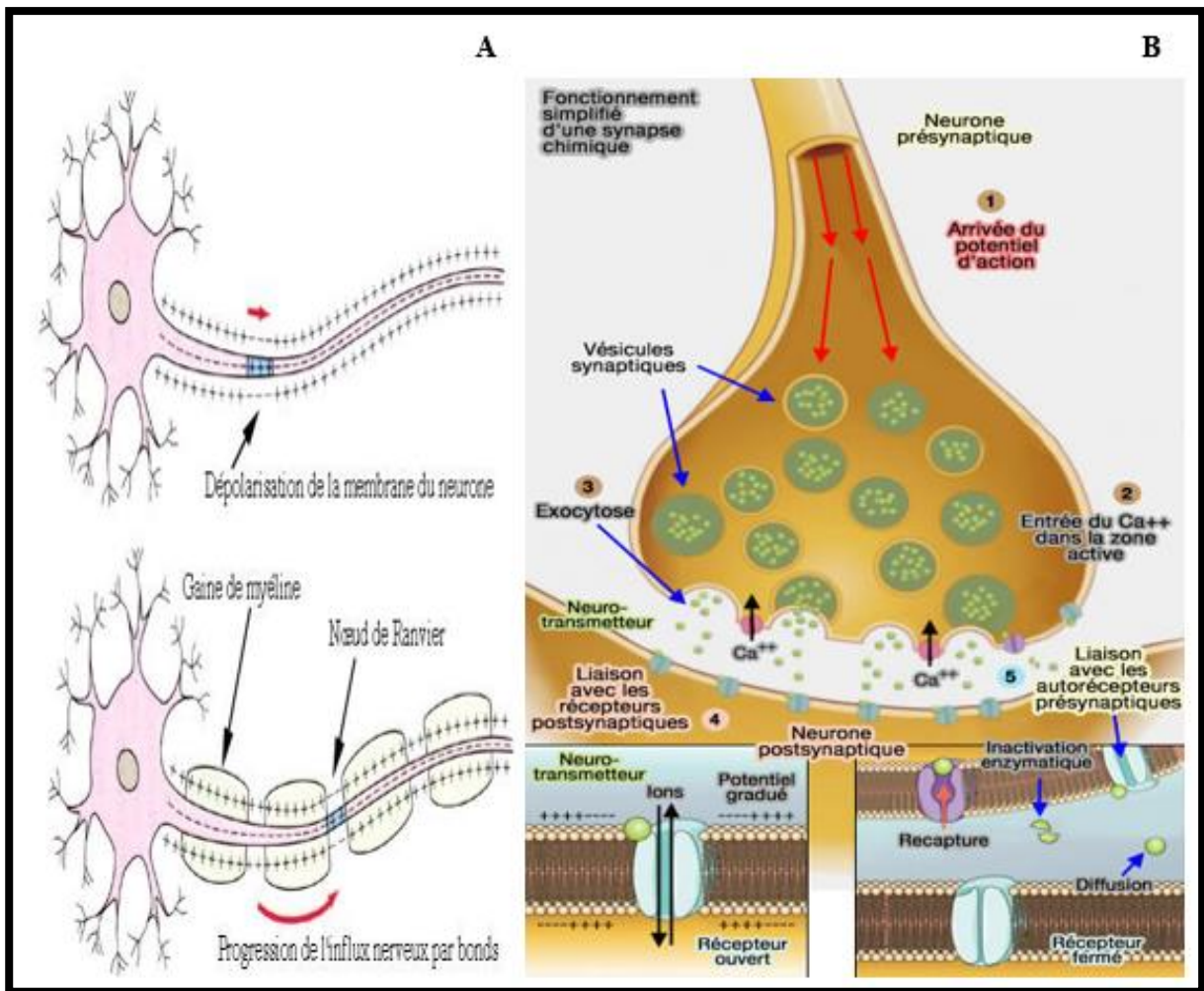


Figure 13. A : Présentation de la progression de l'influx nerveux le long d'un neurone amyélinique (en haut) et le long d'un neurone myélinique (en bas) (**Cambier, 2008**) **B** : Mode de transmission des signaux nerveux (**Marieb, 2008**).

2.1.5.2. Les neurotransmetteurs

Un neuromédiateur, également appelé neurotransmetteur, est une substance chimique libérée par un neurone qui se lie aux récepteurs présents sur un autre neurone, permettant ainsi de relayer le message nerveux au niveau de la synapse. Son rôle principal consiste à modifier de manière spécifique l'activité d'une autre cellule (**Suudhof, 2008**).

Acétylcholine (ACh)

L'Acétylcholine est le premier neurotransmetteur excitateur des neurones découvert en 1914, il est synthétisé au niveau des terminaisons axonales à partir de la choline et de l'acétyl-CoA sous l'action de l'enzyme choline acétyltransférase. Lorsqu'un potentiel d'action atteint la terminaison nerveuse, le processus de synthèse du neurotransmetteur est activé. Quand un potentiel d'action arrive à la terminaison nerveuse, des ions calciques entrent massivement dans la terminaison et induisent la libération de l'ACh dans la synapse où elle se lie à des récepteurs sur la cellule cible (ex. cellule musculaire), cette action entraîne l'ouverture des canaux sodiques, l'afflux d'ions sodium envoie également un message au sein de la fibre musculaire pour déclencher la libération des ions calcium stockés contenu dans le réticulum sarcoplasmique. Les Ca^{2+} se diffusent dans la fibre musculaire et provoquent la contraction des muscles squelettiques. L'ACh est ensuite dégradée par l'enzyme acétylcholine estérase en choline et bêtaïne puis resynthétisée dans la terminaison nerveuse. Deux types de récepteurs naturels sont capables de reconnaître l'acétylcholine sont les récepteurs muscarinique et nicotinique. Dans le cerveau, l'ACh joue un rôle crucial dans des processus tels que le sommeil, l'attention, l'apprentissage et de la mémoire, notamment au niveau de l'hippocampe. Ce neurotransmetteur est également impliquée dans la stimulation des systèmes végétatifs (sympathique, parasympathique et musculaire) au niveau périphérique, ainsi que dans la régulation du rythme cardiaque (**Hasselmo, 2006 ; Easton et al., 2012**). Une diminution de l'acétylcholine est associée à des troubles de la mémoire observés chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer (**Collie and Maruff, 2000**).

- **Dopamine (DA)**

La dopamine (DA) est un neurotransmetteur appartient à la famille des catécholamines, elle exerce une fonction inhibitrice sur les neurones, tout comme l'adrénaline et la noradrénaline (**Schultz, 2007**), la DA est synthétisée à partir de la phénylalanine. La phénylalanine hydroxylase décompose ce précurseur en tyrosine, qui est ensuite soumise à une hydroxylation

par la tyrosine hydroxylase pour former la L-DOPA. L'étape suivante est la formation de la DA par l'intervention de l'enzyme la dopa-décarboxylase, ensuite ce neurotransmetteur est concentré dans des vésicules, où ces dernières vont fusionner avec la membrane pré-synaptiques lors d'un potentiel d'action, afin de larguer la DA dans la fente synaptique pour se lier à des récepteurs spécifiques post- et pré-synaptique. La dopamine a deux destins possibles : elle peut être recyclée ou dégradée en 3-méthoxy-tyramine (3MT) par une enzyme appelée catéchol-O-méthyltransférase (COMT) (Lam et al., 2011). La DA est impliquée dans les processus d'anxiété et l'apprentissage, aussi elle agit sur l'humeur et le sommeil, elle est importante dans le circuit de la récompense, elle apporte le plaisir, le déficit du système dopaminergique est associé à la maladie d'Alzheimer et de Parkinson (Corti et al., 2005 ; Salamone et al., 2007 ; Rolland, 2012 ; Berke, 2018).

- **Gamma-Amino-Butirique-Acide (GABA)**

GABA est un neurotransmetteur inhibiteur des neurones, identifié en 1950, il réduit l'excitabilité neuronale par l'ouverture des canaux Cl^- dans la membrane des neurones postsynaptiques. Il est largement répandu dans différentes régions du cerveau, notamment le cortex, l'hippocampe, le cervelet et le striatum, où il se trouve à des concentrations élevées. (Sonar et al., 2019). Il est synthétisé par la décarboxylation du glutamate, grâce à l'enzyme la GAD (Glutamic Acid Decarboxylase), puis libérée dans la fente synaptique, où il est capté par des récepteurs dans les neurones GABA et les cellules gliales. Une fois recapté par les neurones, le GABA est recyclé ou dégradé en succinate par l'intervention successive de deux enzymes ; la GABA transaminase mitochondriale (GABA-T) qui transforme le GABA en acide succinique semi-aldéhyde, puis, la semi-succinique aldéhyde déshydrogénase (SSA-D), qui transforme l'acide succinique semi-aldéhyde en succinate (Hertz, 2013). Le GABA contribue au contrôle moteur, l'anxiété et la vision (Hermans et al., 2018).

- **Sérotonine (5-HT)**

La sérotonine ou 5-hydroxytryptamine (5-HT), a été découverte en 1947. Elle est produite à partir du tryptophane, qui est converti en 5-hydroxytryptophane par l'enzyme tryptophane hydroxylase, puis en 5-hydroxytryptamine (5-HT) par une décarboxylase, puis elle est ensuite transportée vers les terminaisons axonales, où elle est stockée dans des vésicules présynaptiques. Lorsqu'un influx de Ca^{2+} se produit, la 5-HT est libérée dans la fente synaptique. Après son action, elle est transformée en acide 5-hydroxyindoleacétique (Matthes and Bader, 2018). La sérotonine (5-HT) est impliquée dans de plusieurs fonctions essentielles du corps, telles que la régulation de la température, le sommeil, l'humeur, la perception de la douleur, ainsi que dans des processus cognitifs tels que la mémoire, l'apprentissage et le

comportement. Elle joue également un rôle dans la régulation du comportement sexuel et alimentaire, ainsi que dans l'expression de l'agressivité et l'état émotionnel (Li et al., 2016 ; Matias et al., 2017).

- **Noradrénaline et l'adrénaline**

La noradrénaline ou norépinephrine, est synthétisée à partir de la dopamine par l'enzyme dopamine β -hydroxylase. Elle contribue dans des fonctions telles que l'attention, les émotions, le sommeil, les rêves et l'apprentissage. De plus, la noradrénaline agit également en tant qu'hormone sanguine, provoquant la constriction des vaisseaux sanguins et augmentant la fréquence cardiaque. Tandis que l'adrénaline (Ad), ou épinephrine, elle est produite à partir de la dopamine grâce à la phényléthanolamine N-méthyltransférase, elle est libérée en situation de stress. Lorsqu'elle est libérée, la noradrénaline entraîne une augmentation du rythme cardiaque et une élévation de la tension artérielle. De plus Ad est un déterminant clé des réponses aux déficits métabolique ou globaux de l'homéostasie (Goldstein, 2010 ; Alvarez-Diduk and Galano, 2015).

- **Glutamate**

Le glutamate (acide glutamique) est un neurotransmetteur excitateur des neurones, identifié en 1866, Le glutamate est un précurseur du GABA, la synthèse de glutamate se fait à partir du glucose ou de la glutamine avec l'intervention de l'enzyme glutaminase. Le glutamate joue un rôle important dans les mécanismes d'apprentissage et de mémoire, et il est largement reconnu comme le principal neurotransmetteur des projections thalamo-corticales et hippocampiques (Meldrum, 2000 ; Nedergaard et al., 2002 ; Zhou and Danbolt, 2014).

2.1.6. Intégration des neurotransmetteurs dans les fonctions cérébrales

Le cerveau est l'organe central du système nerveux qui possède la capacité d'intégrer les informations et de coordonner les actions de l'organisme en fonction des signaux sensoriels qu'il reçoit. Il contribue à la régulation des fonctions des organes en contrôlant les muscles et les glandes, et il est responsable de la coordination motrice ainsi que des processus cognitifs, telles que la mémorisation, la conscience, l'apprentissage,...à l'aide des neurotransmetteurs (Newberg and Iversen, 2003).

2.1.6.1. Intégration dans la mémorisation

La mémoire c'est une fonction cognitive, désigne à la fois le stockage des connaissances et les mécanismes d'utilisation, l'organisation et de l'expression de nos connaissances, ainsi que de notre intelligence, de notre motricité et de notre affectivité individuelles. Elle basé sur la

mécanisme de recevoir, traiter, mémoriser et restituer les stimuli et les informations que nous percevons (Truc et al., 2013). On distingue :

La mémoire sensorielle : est un processus qui permet la conservation temporairement des informations perçues par nos organes sensoriels. De plus, elle conserve de manière brève et fidèle les stimuli captés par nos sens, ne dépassant généralement pas deux secondes (Duranton et al., 2017). **La mémoire de travail** : fait référence à la maintenance et à la manipulation temporaire et active des informations nécessaires pour des tâches complexes. De plus **la mémoire à long terme** : fait référence au mécanisme par lequel les souvenirs acquis gagnent en stabilité ou se renforcent avec le temps et deviennent résistants aux interférences (Brem et al., 2013). Elle permet de mémoriser des informations à une capacité et durée illimitée (Duranton et al., 2017). Et **la mémoire à court terme** : se définit comme le maintien d'information sur une courte période (Brem et al., 2013).

Lors de la mémorisation d'un souvenir, un réseau spécifique de neurones s'élabore dans diverses structures du cerveau, toutefois, elle se construit principalement dans l'hippocampe, qui joue un rôle de lien entre les différents systèmes de mémoire (Ergorul and Eichenbaum, 2004), où l'étude de Squire en 1992 montre que l'ablation bi-latérale de l'hippocampe provoque un déficit de mémorisation (perte totale des souvenirs récents et incapacité de stocker de nouveaux). D'autres études indiquent que les récepteurs muscariniques et nicotiques de l'acétylcholine jouent un rôle important dans le codage de nouveaux souvenirs, où les lésions ou le blocage de ces récepteurs induit l'altération de l'encodage des nouveaux souvenirs. L'ACh peut améliorer le codage en augmentant la force de l'entrée afférente par rapport à la rétroaction, en activant des mécanismes intrinsèques pour augmenter la modification des synapses (Hasselmo, 2006). Une autre étude montre l'implication de l'ACh dans la mémoire, où les travaux de Dundee and Pandit, (1972) ont enregistré la mort des neurones libérant de l'ACh, un tel phénomène est observé également chez les personnes souffrant de la maladie d'Alzheimer.

Le glutamate joue un rôle important dans la mémoire, où ses récepteurs ionotropes (iGluR, couplés aux canaux ioniques) et métabotropiques (mGluR, couplés au second messager) sont repartis différemment sur les sites pré et post synaptique pour contribuer au traitement du signal qui détermine l'apprentissage et la formation de la mémoire (Riedl et al., 2003).

2.1.6.2. Intégration dans l'apprentissage

L'apprentissage est un processus cérébral en réaction à un stimulus, conduisant à l'acquisition de connaissances et entraînant un changement de comportement persistant, mesurable et spécifique, il résulte de l'intégration de toutes les informations perçues et traitées (Perruchet

and Nicolas, 1998). Plusieurs neurotransmetteurs sont impliqués au processus de l'apprentissage comme la dopamine, qui est aujourd'hui considérée comme un signal d'apprentissage. Selon une étude réalisée par **Koepp et ses collaborateurs en 1998**, ils ont été suggérés que la pratique d'un jeu vidéo induit une libération de dopamine dans le striatum ventral et dorsal du cerveau. De plus, les pathologies liées à la dopamine, comme la maladie de Parkinson, entraînent non seulement des déficits dans le contrôle moteur, mais aussi des difficultés d'apprentissage moteur (**Soliveri et al., 1997**) et cognitif (**Knowlton et al., 1996; Dubois and Pillon, 1997**). De plus, Les neurones GABAergiques contribue à la synchronisation des réseaux neuronaux et aux mécanismes d'apprentissage, notamment par la génération d'oscillations (**Ben-Ari, 2007**). D'autres études ont également montré qu'une concentration élevée d'acétylcholine peut entraîner des déficits dans la mémoire et l'apprentissage (**Showell et al., 2020**).

2.1.6.3. Intégration dans la conscience

La conscience est une manifestation du traitement holistique de l'information, où elle englobe la perception consciente des sensations, le déclenchement volontaire et la maîtrise des mouvements ainsi que les capacités associées au traitement mental supérieur (la mémoire, la logique, le jugement, la persévérance, l'apprentissage). Le cortex cérébral est le siège de cette fonction cognitive (**Crick and Koch, 1995 ; Laureys et al., 2004 ; Laureys, 2005**), aussi selon l'étude de **Perry et al. (2002)** a montré que l'acétylcholine et la dopamine sont les neurotransmetteurs essentiels pour le mécanisme de la conscience.

2.1.6.4. Intégration dans l'anxiété

L'anxiété est une réaction physiologique de l'organisme face à des situations dangereuses ou stressantes. Elle englobe à la fois des manifestations physiologiques et des réponses psychologiques adaptatives (**Perrotta, 2019**). Et d'après plusieurs recherches, l'anxiété peut être due à un déséquilibre de certains neurotransmetteurs, tels que le GABA, la 5-HT, la NA et le glutamate (**Guccione, 2018**). L'augmentation anormale des concentrations en glutamate pourrait contribuer à l'apparition de l'anxiété, et la modulation de la transmission glutamatergique pourrait contribuer à faire régresser les réactions anxieuses et agressives (**Cortese et al., 2005**), de plus, le taux élevé de sérotonine dans l'espace synaptique peut provoquer une réaction anxieuse à court terme (**Mahar et al., 2014**). Tandis que le manque d'action de GABA serait impliqué dans les phénomènes d'anxiété (**Luscher et al., 2011**).

2.1.6.5. Intégration dans le mouvement

Le mouvement est l'un des caractéristiques de l'être vivant, qui entraîne le changement de lieu. Les mouvements volontaires sont appelés locomotion (marcher, nager, grimper), où la locomotion nécessite une activité parfaitement coordonnée des systèmes neuronaux, musculaires et squelettiques (Yakovenko and Drew, 2015).

Le muscle est un tissu excitable, son excitation est le préalable à sa contraction. Donc la présence d'un courant électrique ou un potentiel d'action, appliqué au niveau de sa membrane (sarcolemme) par l'acétylcholine fixé sur la membrane musculaire grâce à un récepteur spécifique, Cette fixation déclenche un signal qui va se propager à la surface de la fibre musculaire, c'est le potentiel d'action musculaire, présentant le début de moment de couplage excitation-contraction. Ces phénomènes font augmenter temporairement la concentration en ions calcium à l'intérieur de la fibre musculaire ce qui provoque immédiatement sa contraction (Mille et al., 2021). Tandis que, la dopamine interagit de façon rapprochée avec le glutamate et l'acétylcholine pour moduler la transmission de l'information motrice en provenance du cortex. La perte de cette modulation au cours de la maladie de Parkinson par exemple, induit des perturbations profondes dans ce système motrice (Tanimura et al., 2018 ; Myslivecek, 2021).

2.1.6.6. Majeures pathologies neuronales

La détérioration graduelle de l'environnement dans les pays industrialisés, due à l'usage excessif de pesticides provoque le développement des différentes maladies telles que le cancer, les troubles de la reproduction et les maladies neurodégénératives (la maladie d'Alzheimer (MA) et la maladie de Parkinson (MP))...etc (Parron et al., 2011 ; Baltazar et al., 2014).

- **Alzheimer**

La maladie d'Alzheimer (MA) est la forme la plus fréquente des maladies neurodégénératives chez les individus âgés de plus de 65 ans. La définition de MA repose sur ses deux types de lésions histologiques, des plaques extracellulaires contenant de la β -amyloïde ($A\beta$) et des angles neurofibrillaires intracellulaires contenant de la Tau (tubule associated units) (Semah et al., 2016). Les facteurs de risque sont l'âge, les mutations rares à transmission dominante de l'APP (codant pour la protéine précurseur de l'amyloïde (APP)), le PSEN1 (gène codant pour la préséniline1) et du PSEN2 (codant pour la préséniline 2). Ces facteurs sont à l'origine de presque tous les cas de MA à transmission dominante, ajouté à cela, les facteurs métaboliques (diabète sucré, hypertension, obésité et faible taux de cholestérol HDL), la perte auditive, les lésions cérébrales traumatiques et l'abus d'alcool, le tabagisme, la dépression, une faible activité physique, le diabète sucré et les différents polluants atmosphériques (Haass et al., 2012).

Les peptides A β sont dérivés de l'APP (Haass and Selkoe, 2007) après l'action des enzymes β -sécrétases et γ -sécrétases, après cette étape, l'A β est sécrétée dans l'espace extracellulaire sous forme de monomère (Holtzman et al., 2011). Et en raison de sa séquence ce peptide a une forte propension à s'agréger en fonction de sa concentration (Haass and Willem, 2019). L'A β oligomérique est toxique, il interagit avec le récepteur métabotrope du glutamate (Spiers-Jones and Hyman, 2014 ; Benarroch, 2018), le NMDA (récepteur au N-méthyl-D-aspartate) et le récepteur nicotinique de l'acétylcholine par la modulation de leur fonction, ainsi l'A β provoque également des modifications pathologiques dans les dendrites et l'efficacité synaptique. Bien que l'A β agrégé peut manifester des lésions neuronales qui pourraient causer la neurotoxicité (Rice et al., 2019). En ce qui concerne la protéine tau, sa fonction principale est la stabilisation des microtubules (Eftekharzadeh et al., 2018). Après sa production, cette protéine est libérée dans l'espace extracellulaire (Wu et al., 2016), où elle subit à des modifications post-traductionnelles causant son agrégation dans les neurones et les cellules gliales postsynaptiques (Calignon et al., 2012). En plus de ces deux protéines, il existe une autre protéine s'appelant ApoE (l'Apolipoprotéine E) dont elle est produite principalement par les astrocytes (Kim et al., 2009). L'ApoE pourrait affecter le début de l'agrégation d'A β dans le cerveau en modifiant sa clairance et son ensemencement causant ainsi une perte progressive et plus marquée des synapses (Masliah et al., 1991 ; Maciotta et al., 2013 ; Semah et al., 2016). Cette perte des connexions synaptiques conduit à des perturbations progressives de la mémoire, accompagnées de confusion mentale et de changements comportementaux (le malade ne peut plus reconnaître ses proches, et nécessite éventuellement une aide dans l'accomplissement des tâches journalières : s'habiller, manger, se laver et faire sa toilette), qui se terminent au final par la mort (Maitre et al., 2017 ; Alberto, 2020).

- **Parkinson**

La maladie de Parkinson (MP) est la pathologie neurodégénérative la plus répandue après la maladie d'Alzheimer, décrite par James Parkinson en 1817, elle est un trouble neurologique chronique et progressif. Elle se caractérise par la perte sélective de neurones dopaminergiques du substantia nigra pars compacta (SNpc) créant ainsi un déficit dans la sécrétion de la dopamine (Chin-Chan et al., 2015), et également la présence d'inclusion cytoplasmique connue par le nom de corps de Lewy qui se forme par l'accumulation d'une protéine intracellulaire appelée α -synucléine (Dickson et al., 2009 ; Kanthasamy et al., 2012). Les causes principales de cette maladie sont l'existence des mutations ponctuelles dans le gène SNCA (Synuclein alpha) qui code pour l' α -synucléine, cette dernière joue un rôle dans la dynamique des vésicules synaptiques. L' α -synucléine est soluble dans sa forme monomérique

et en se polymérisant progressivement, elle formera de petites protofibrilles et éventuellement de grandes fibrilles amyloïdes insolubles ("agrégats" qui composent le corps de Lewy) (**Kim and Lee, 2008 ; Melki, 2015**). De plus, la protéolyse et la clairance des assemblages de l' α -synucléine sont maintenues par les actions du système ubiquitine protéasome (UPS) et du système lysosomal-autophagie (LAS). L'autophagie par le chaperon (CMA (Chaperone-mediated autophagy)) et la macroautophagie sont suggérées pour médier la dégradation de l' α -synucléine (**Xilouri et al., 2013**). L'inhibition de ces systèmes entraîne une augmentation des niveaux d' α -synucléine (**Xilouri et al., 2009**). Ainsi que le dysfonctionnement mitochondrial à cause de l'accumulation de la protéine α -synucléine à l'intérieur des mitochondries conduit à des déficits du complexe 1 et à un stress oxydatif, ces perturbations induisent une dégénérescence axonale potentiellement due au déficit énergétique, qui pourrait être un événement neurodégénératif en amont et au début de la MP (**Devi et al., 2008**). Plusieurs produits chimiques existant dans la composition d'herbicides, d'insecticides et d'autres toxines sont des causes principales de MP (**Taylor et al., 2005 ; Dick et al., 2007**). Ajouté à cela, le stress oxydatif dans les neurones dopaminergiques nigraux affectent la production de la dopamine causant ainsi une inefficacité dans la fonction dopaminergique. Cette déficience est justifiée par le fait que ces neurones sont vulnérables au stress métabolique et oxydatif pour plusieurs raisons. Premièrement, ils possèdent des axones particulièrement longs et non myélinisés, avec un grand nombre de synapses qui nécessitent une grande énergie pour être entretenues (**Pissadaki and Bolam, 2013**). Deuxièmement, ils présentent une activité de stimulation autonome impliquant les oscillations cytosoliques du calcium et l'extrusion du calcium au détriment de l'énergie (**Surmeier et al., 2016**). Troisièmement, des niveaux élevés de dopamine peuvent provoquer un stress oxydatif toxique (**Mosharov et al., 2009**). Les symptômes majeurs de MP sont le tremblement de repos, l'akinésie/ bradykinésie et la rigidité, des troubles de la posture et de la marche, qui favorisent les chutes et les fractures. De plus, d'autres systèmes peuvent être atteints, par exemple, elle entraîne des troubles cognitifs, digestifs et urinaires. Actuellement, la MP ne peut être guérie, mais une prise en charge pluridisciplinaire est souvent très efficace pour la diminution de ses symptômes (**Ming et al., 2009 ; Chin-Chan et al., 2015**).

2.1.6.7. Intégration de la mitochondrie dans la fonction neuro-énergétique

Les neurones sont des cellules spécialisées qui jouent un rôle important dans la communication entre les cellules. Ils ont besoin d'un taux élevé d'énergie qui est fournie par les mitochondries (**Letournel et al., 2007**). La mitochondrie est le centre de nombreux processus physiologiques en plus de sa fonction énergétique. Elle assure aussi le transport axonal, la

production des espèces réactives oxygénés et la thermogénèse (Duchen, 2004). La mitochondrie contribue dans le développement du système nerveux central (SNC) en régulant le processus de mort cellulaire, soit par l'apoptose qui consiste en une série d'événements où les cellules déclenchent leur autodestruction en réponse à un signal qui est dans ce cas l'augmentation massive du calcium mitochondrial permettant ainsi l'ouverture du mPTP (Mitochondrial Permeability Transition Pore) (Wallace, 2012). Ou par la nécrose qui est un processus pathologique élimine les cellules endommagées suite à un traumatisme ou inflammation (Oppenheim, 1991). Ces processus permettent le maintien de l'homéostasie tissulaire et leurs dysfonctionnement sont susceptibles de contribuer aux mécanismes de neurodégénérescences (Letournel et al., 2007).

2.1.7. Stress oxydatif et mort cellulaire

2.1.7.1. Généralité

Les cellules de l'organisme sont constamment exposées chroniquement à des oxydants, qu'ils proviennent de l'intérieur de l'organisme ou de l'environnement extérieur. En effet, la source endogène réside notamment dans la mitochondrie, via sa chaîne respiratoire (Favier, 2003), notamment des électrons peuvent s'échapper au niveau des complexes I et III, et réagir avec l'oxygène moléculaire dissous, formant ainsi l'anion superoxyde (Karpinska and Gromadzka, 2013). Ajouté à cela, des réactions enzymatiques, telles que celles impliquant les NAD(P)H oxydases, les xanthine oxydases et le cytochrome P450 (présent dans le réticulum endoplasmique et les peroxysomes)(Fang et al., 2002). Par exemple, La NADPH oxydase catalyse la réduction monoélectronique de l'oxygène en utilisant le NADPH ou le NADH comme donneur d'électrons au niveau de la membrane plasmique, ce qui entraîne la formation de H_2O_2 et de $NADP^+$ (Piotrowski and Marczak, 2000 ; Czajka, 2006), par ailleurs, La xanthine oxydase a la capacité de catalyser l'oxydation de la xanthine en acide urique. Au cours de cette réaction, l'oxygène moléculaire agit comme un accepteur d'électrons, produisant ainsi $O_2^{\bullet-}$ (Garait, 2006). Concernant les sources exogènes, elle représente par les radiations, les médicaments, les polluants atmosphériques tels que les pesticides et les solvants organiques. Ces facteurs peuvent conduit à la formation constante de molécules appelées espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (ERON) (Rouaki and Kanane, 2019). Les ERON sont des espèces chimiques qui possèdent au moins un électron non apparié sur leur orbitale externe, ce qui leur confère une grande réactivité (Temple et al., 2005). Ils sont impliqués dans les processus physiologiques de l'organisme à des concentrations modérées. Cependant, une production excessive d'ERON peut devenir toxique (Rouaki and Kanane, 2019), en créant un état de

"stress oxydatif" caractérisé par un déséquilibre entre les systèmes prooxydants et les systèmes antioxydants (Zalewska et al., 2014 ; Maciejczyk et al., 2017).

2.1.7.2. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances présentes à une faible concentration comparée à celle des oxydants. Ils sont d'origine exogène et endogène et se distinguent en antioxydants enzymatiques ou non-enzymatiques, ayant un pouvoir antiradicalaire et scavenger des prooxydants, visant un stress oxydatif équilibré (Niki, 2010).

2.1.7.1.1. Les antioxydants enzymatiques

Les systèmes antioxydants de l'organisme sont les responsables de la première ligne de défense contre ERON (Khithar, 2020), dans cette catégorie d'antioxydants nous retrouvons, les **superoxydes dismutases (SOD)** jouent un rôle essentiel en catalysant la conversion de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et en oxygène (O_2) (Vamecq et al., 2004). La **Glutathion peroxydase (GPx)** est une sélénoprotéine qui réduit le H_2O_2 en présence de GSH, pour donner H_2O (Comhair and Erzurum, 2002), ajouté à cela la **catalase (CAT)** qui est l'oxydoréductase la plus universelle, elle élimine H_2O_2 en O_2 et H_2O (Qureshi et al., 2007). De plus, la **Glutathione -s- transférase (GST)** est un groupe de protéine assure la détoxification des cellules par la conjugaison de GSH avec un large spectre de produits chimiques toxiques (Rezaei et al., 2013) (figure 14).

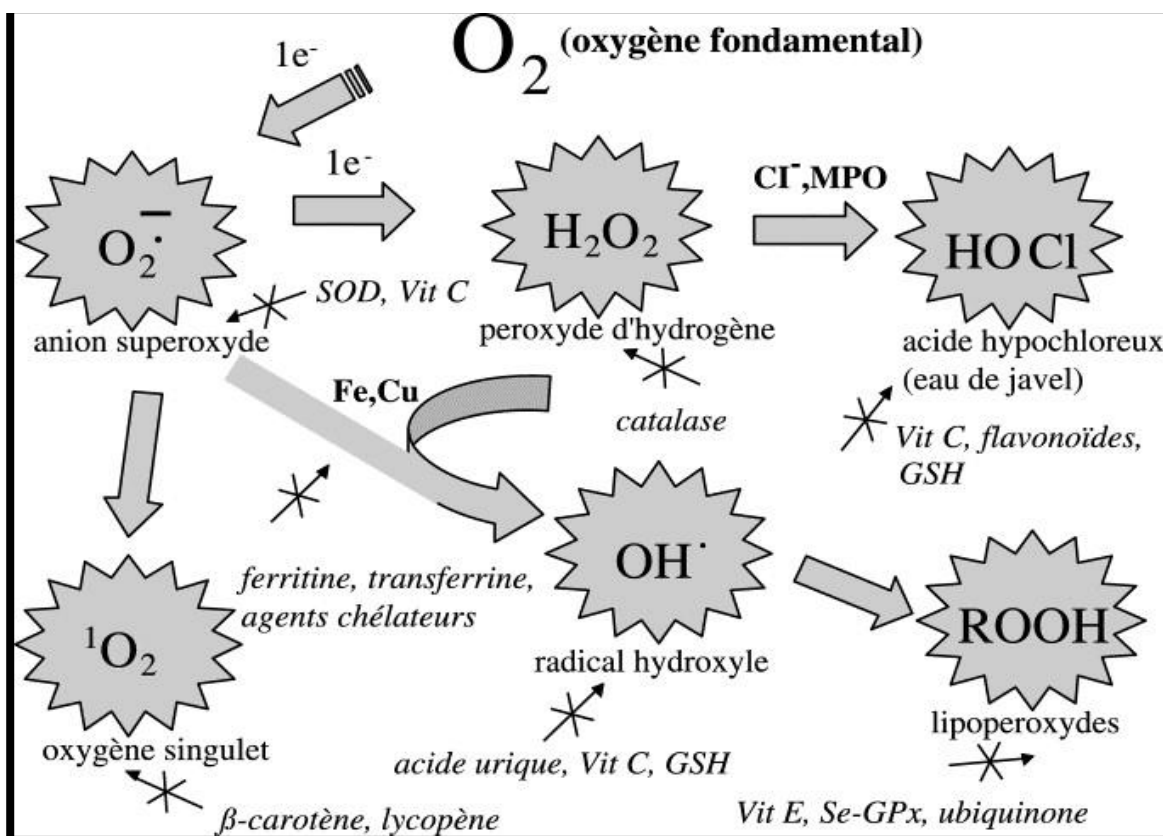


Figure 14. Production et neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (Pincemail et al , 2002).

Vit C : vitamine C ; *Vit E* : vitamine E ; *GSHPx* : Glutathion peroxydase ; *Fe* : fer ; *Cu* : cuivre ; *ROOH* : hydroperoxydes

2.1.7.1.2. Les antioxydants non enzymatiques

La majorité des antioxydants non-enzymatiques ne sont pas produits par l'organisme lui-même et doivent être apportés par l'alimentation. Parmi ces antioxydants, on trouve des oligo-éléments, le glutathion réduit (GSH), le cytochrome c, ainsi que les vitamines E et C, les polyphénols...etc (Favier, 2003).

Le **GSH** (glutathion), est un tripeptide (γ -glutamyl-cystéinyl-glycine) synthétisé naturellement par les cellules. Il est caractérisé par un groupement réducteur situé sur la cystéine, représenté par la fonction thiol. Cette fonction thiol neutralise les radicaux libres selon la réaction suivante (Wu et al., 2004).



Les vitamines, les plus courantes sont la vitamine A (rétinol), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E). Ces substances ont la capacité de piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles et superoxydes (Poljsak et al., 2013). La vitamine A peut réagir avec l'oxygène singulet, l'anion super oxyde, les peroxy-nitrites, les radicaux lipidiques formant un élément stable (Alain, 2011). Les tocophérols ont la capacité de protéger les acides gras polyinsaturés contre les dommages causés par l'oxydation, surtout ceux présents dans la bicouche des membranes biologiques (Sebei et al., 2007, Belyagoubi, 2011). Quant à la vitamine C, elle subit une réaction d'auto-oxydation en présence de dioxygène, ce qui conduit à la libération d'électrons. Ces électrons sont capables de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Trott, 2019 ; Ingrid, 2018).

Les oligoéléments qui sont des éléments chimiques présents dans le corps humain en concentration inférieure à 0.01% (Beausir et al., 2011), jouent un rôle de cofacteurs indispensables pour des réactions enzymatiques antioxydantes comme SOD, GPX et CAT. Parmi lesquels on évoque le cuivre, le manganèse, le sélénium et le zinc (Leake et al., 1984 ; Dusek et al., 2015).

Le **cytochrome c** se trouve dans l'espace intermembranaire des mitochondries, il capte l'électron libre généré par l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) produit lors de la chaîne respiratoire, Puis le transmet au complexe IV, ce qui conduit à la formation du cytochrome c oxydé et H_2O (Skulachev, 1998).

Les **polyphénols ou composés phénoliques** à l'origine, ils sont des phyto-substances dérivés de phénol, constituent plus de 8000 molécules répartissent en plusieurs classes chimiques et possèdent une caractéristique commune qui est la présence d'un cycle aromatique à 6 carbones dans leur structure, porté d'un nombre variable de groupes hydroxyles (OH). Ces composés sont des substances liposolubles et hydrosolubles (**Hennebelle et al., 2004**). Les polyphénols agissent en tant qu'antioxydants en capturant et neutralisant les radicaux libres. Ils sont également capables de chélater les métaux pro-oxydants grâce à leurs groupements hydroxyles, et peuvent contribuer également à la régénération des formes réduites des vitamines E et C. (**Scalbert et al., 2002**). Ces polyphénols sont présents dans les racines, les feuilles, la tige, les fleurs et aux fruits... etc (**Hennebelle et al., 2004**).

2.1.7.3. Impacts de stress oxydatif sur l'intégrité structurale et fonctionnelle des cellules et des mitochondries

2.1.7.3.1 Généralité

L'effet des radicaux libres sur la structure et la fonction des biomolécules cellulaires peut conduire à leur dysfonctionnement partiel, total ou à la mort cellulaire. Les ERON induisent des lésions cervicales et hépatique par la peroxydation lipidique des lipides membranaire, l'agrégation et l'endommagement des protéines et des acides nucléique (**Keller, 2006 ; Schrag et al., 2013 ; Padurariu et al., 2013 ; Chang et al., 2014**). Par exemple, dans le cas de l'ADN, la guanine peut réagir avec des radicaux hydroxyles pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG), ce qui peut altérer les appariements de bases. De plus, ces ERON peuvent cliver les liaisons entre les bases azotées de l'ADN, entraînant des dommages et des mutations génétiques (**puzanowska-tarasiewics et al., 2008 ; Zablocka et al., 2008**). Pour ce qui est des protéines, les acides aminés les plus réactifs aux ERON sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine, Ces ERON peuvent entraîner leurs oxydation, la formation de groupements carbonylés et la formation de ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes. Les protéines oxydées peuvent s'accumuler et former des agrégats (**Lushchak, 2007**). De plus, les ERNO peuvent également être oxydées les lipoprotéines circulantes, formant des LDL oxydées qui jouent un rôle dans l'athérogénèse (**Nakajima et al., 2006**). Et pour les lipides, les acides gras polyinsaturés, tels que les acides linoléiques, linoléniques et arachidoniques, sont particulièrement sensibles aux attaques des ERON. Par exemple, les radicaux hydroxyles peuvent réagir avec les acides gras polyinsaturés pour former des radicaux peroxydes, ce qui entraîne des altérations de la fluidité membranaire et, éventuellement, la mort cellulaire (**puzanowska-tarasiewics et al., 2008**). De plus les ERON peuvent supprimer la

glycolyse par l'inhibition de glycéraldéhyde 3phosphate déshydrogénase, et donc l'épuisement d'ATP (**Jakubczyk et al., 2020**). Plusieurs études ont montré l'effet des néonicotinoïdes sur les indicateurs de stress, entre autres, les résultats de **Kapoor et al.(2010)** ont montré des perturbations du statut redox intracellulaire, après le traitement oral des rats par 20 mg/kg de poids corporel d'imidaclopride, aussi **Vesile and Suat (2009)** ont enregistré une augmentation du taux de MDA et l'activité enzymatique de la CAT après le traitement des animaux de laboratoire par 10 μ M d'imidaclopride. De plus les résultats de (**Duzguner and Erdogan, 2012**) ont montré une altération significative des paramètres MDA, GSH et SOD, après le traitement des rats par l'imidaclopride (1mg/kg pendant 30 jours). Or, les travaux de **Farag et al. (2019)** ont mis en évidence l'épuisement de GSH et de SOD après le traitement des rats par l'imidaclopride pendant 90 jours.

2.1.7.3.2. Mécanisme de la perméabilisation membranaire mitochondriale

La mitochondrie est une organelle sub-cellulaire où se déroulent la production énergétique et le métabolisme cellulaire le plus déterminant afin d'assurer la vie et la croissance cellulaire dans l'organisme. Cette organelle joue un rôle crucial dans le déclenchement ou l'amplification des processus conduisant à l'apoptose, qui peuvent être déclenché par diverses agressions cellulaires telles que l'exposition à des substances étrangères toxique, le stress oxydatif, la diminution de la disponibilité d'ATP ou une forte concentrations en phosphate inorganique ou en calcium (**Yang et al., 1997 ; Bernardi et al., 1999 ; Duchen, 2000**). Ces processus donne lieu au phénomène de la transition de perméabilité mitochondriale, une étape cruciale de la signalisation de la mort cellulaire, caractérisé par l'ouverture de pores importants dans la membrane interne des mitochondries, ce qui entraîne un gonflement de la matrice mitochondriale, connu sous le nom de "swelling". Ce gonflement conduit ensuite à une rupture de la membrane externe, qui est plus fragile, et provoque la fuite de molécules telles que le cytochrome c. La libération du cytochrome c induit alors la maturation des procaspases, conduisant finalement à l'apoptose (**Batandier et al., 2004 ; Desquiret, 2008 ; Marzetti et al., 2008**).

2.1.7.3.3. Perméabilité mitochondriale transitoire et maladies neurodégénératives

La perméabilité mitochondriale transitoire (mPTP) joue un rôle central dans l'altération structurale et fonctionnelle des mitochondries conduisant à des lésions neuronales liées aux maladies neurodégénératives, y compris la maladie d'Alzheimer (MA), maladie de Parkinson (MP), et la maladie de Huntington (MH) qui sont les maladies les plus courantes chez l'homme adulte (**Rao et al., 2013**). Dans le cas de la MA, plusieurs auteurs ont montré que les pores de la

perméabilité mitochondriale transitoire se compose d'un ensemble de peptides comme le canal anionique voltage dépendant (VDAC), le nucléotide adénine translocateur (ANT), où l'interaction de ces peptides avec certaines molécules mitochondriales telles que cyclophiline D (cyp D) déclenche le phénomène de mPTP, entraînant une perte de la membrane mitochondriale et donc une altération de la chaîne respiratoire. L'altération de la fonction respiratoire cause une augmentation du stress oxydatif, une libération de cytochrome c et aussi une altération de transport mitochondrial axonal conduisant ainsi à la mort des cellules neuronales (**Heng et al., 2009 ; Rao et al., 2013**). De plus, la mPTP participe activement aux mécanismes neurodégénératifs dans la MP. Il paraît en effet, que la concentration calcique élevée est induite par l'activité excessive de la dopamine qui va jusqu'à perturber la fonction des mitochondries des neurones dopaminergique (**Rao et al., 2014**). Les travaux de **Martin et al., (2013)** ont montré que les régulateurs (cyp D, l'ANT) de la mPTP sont exprimés dans les neurones des souris MP, aussi la technique de Western blot a révélé une augmentation du cyp D au niveau de striatum et tronc cérébral chez ces souris, de plus ces travaux ont enregistré un gonflement et agrégation mitochondriale dans ces neurones.

2.1.7.3.3. Mort cellulaire

- **Apoptose**

L'apoptose, appelée la mort cellulaire programmée. Elle est caractérisée par les critères morphologiques suivants ; rétrécissement cellulaire, condensation et marginalisation de la chromatine nucléaire, fragmentation de l'ADN, vacuolisation cytoplasmique (**Kanduc et al., 2002**). L'apoptose peut être initiée par la cellule elle-même lorsqu'elle détecte un dommage via un certain nombre de capteurs intracellulaires, c'est la voie intrinsèque connue sous le nom de voie mitochondriale grâce à des facteurs libérés par les mitochondries et est initiée soit par une voie positive, soit par une voie négative (**Igney and Krammer, 2002**). Les signaux négatifs résultent de l'absence de cytokines, d'hormones et de facteurs de croissance dans l'environnement immédiat de la cellule. En l'absence de ces signaux de survie cellulaire, les molécules pro-apoptotiques de la cellule, telles que puma, noxa et bax, qui sont normalement inhibées, deviennent actives et déclenchent l'apoptose. Les signaux positifs déclenchant l'apoptose comprennent l'exposition à l'hypoxie, aux toxines, aux rayonnements, aux ERON, les virus et divers agents toxiques (**Brenner and Mak, 2009**). La caspase 9, qui est capable de se lier à la protéine adaptatrice (apoptotic protease activating factor 1 (APAF1)) après exposition de son domaine de liaison des caspases (domaine CARD), cette voie est caractérisée par l'ouverture du pore de transition de perméabilité mitochondriale (mPTP), qui induit la sortie des protéines pro-apoptotiques (le cytochrome c, Smac/Diablo et HtrA2/ Omi) vers le

cytoplasme, ces molécules sont susceptibles d'activer l'apoptose (Cain et al., 2002). Or, l'apoptose peut résulter également de l'interaction entre une cellule du système immunitaire et une cellule endommagée, ce qui est connue comme une voie extrinsèque (Oppenheim et al., 2001). Cette voie est connue aussi par la voie des récepteurs de mort (DR) de l'apoptose (Igney and Krammer, 2002). Ces DR sont des membres de la superfamille du facteur de nécrose tumorale (TNF) (Bossen et al., 2006), elle est initiée par les cellules tueuses naturelles ou les macrophages en patrouille, ces dernières cellules produisent des ligands de mort qui, en se liant aux DR dans la membrane de la cellule cible induisent l'activation de la procaspase 8 en caspase 8 (Kim et al., 2004). Les résultats de l'étude de Schwarzbacherova et al. (2019) ont montré que le THI a entraîné une diminution de viabilité et prolifération cellulaires, arrêt du cycle cellulaire médié par p53 au stade G(0)/G(1) et induit l'apoptose, il induit également des dommages oxydatifs de l'ADN (cassures double brin de l'ADN et légère augmentation du recrutement des sites de liaison de la protéine p53). D'autre étude a montré que les néonicotinoïdes peuvent altérer l'homéostasie du Ca^{2+} dans les cellules animales. Ce déséquilibre induit des dommages au SNC en entraînant des dysfonctionnements mitochondriaux, un stress oxydatif et des dommages à l'ADN, et de l'apoptose (Wei et al., 2020) (figure 15). Par exemple, dans le cas d'imidaclopride, cet insecticide néonicotinoïdes produit un flux continu de Ca^{2+} dans les neurones et augmente rapidement les niveaux de ERON, ce qui peut déclencher la perméabilité des pores de transition, libérant le Cyt C, et conduisant à l'apoptose cellulaire (Martelli et al., 2020).

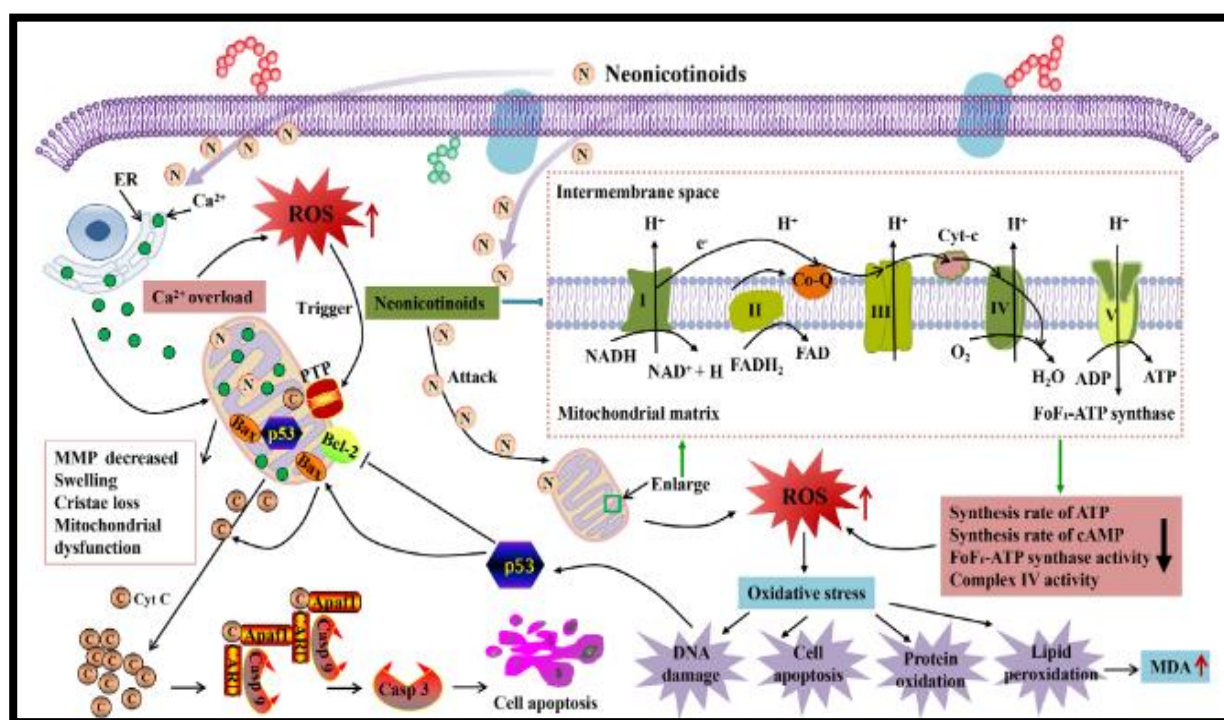


Figure 15. Différents dommages des néonicotinoïdes, les dommages à l'ADN, l'apoptose cellulaire, l'oxydation des protéines et la peroxydation des lipides, l'altérant l'homéostasie du Ca^{2+} mitochondrial, inhibant la respiration et induisant la production ERON

Apaf1 : facteur 1 d'activation de la protéase de l'apoptose, *ATP* : adénosine triphosphate, protéine X associée à Bax Bcl2, *Bcl-2* : lymphome à cellules B 2, domaine de recrutement de caspase : *CARD*, *Casp 3* : caspase 3, *Casp 9* : caspase 9, *Cyt C* : cytochrome C, *ER* : réticulum endoplasmique, *FAD* : flavine adénine dinucléotide, *FADH2* : flavine adénine dinucléotide, réduit, *MDA* : malondialdéhyde, *MMP* : potentiel de membrane mitochondriale, *NADH* : nicotinamide adénine dinucléotide, *p53* : protéine tumorale 53, *PTP (mPTP)* : pore de transition de perméabilité mitochondriale (Xu et al., 2022).

- **Importance de l'apoptose dans le système nerveux central**

La mort cellulaire programmée est cruciale pour le développement normal des neurones, où elle régule le nombre et les types de cellules dans le cerveau en développement, et joue un rôle clé dans la construction d'un réseau neuronal efficace. Dans des conditions pathologiques, l'apoptose est également responsable de la perte de neurones associée aux maladies neurodégénératives, ainsi que du vieillissement physiologique (Tendi et al., 2010).

- **L'autophagie**

L'autophagie est un terme général désignant le processus par lequel le matériel cytoplasmique est acheminé vers les lysosomes pour y être dégradé (Lin and Baehrecke, 2015), il est un processus catabolique par lequel les cellules stressées forment des phagophores qui sont les membranes cytoplasmiques en forme de croissant, ces phagophores se transforment en autophagosomes complets. Les autophagosomes englobent les protéines et les organites cytoplasmiques endommagés pour fournir de l'énergie cellulaire et les éléments de base pour la biosynthèse (Mizushima et al., 2011). Il existe trois types d'autophagie : la macroautophagie, la microautophagie et l'autophagie. Dans la forme " macroautophagie ", des régions entières de la cellule sont enfermées dans des autophagosomes qui fusionnent ensuite avec des lysosomes pour devenir des autophagolysosomes et leur contenu est ensuite dégradé par les protéases qui y sont présentes. Dans le cas de la microautophagie, la cargaison (organelles ou régions du cytosol) interagit directement et fusionnent avec les lysosomes (Li et al., 2012a, b), elle peut être déclenchée par des molécules de signalisation présentes à la surface d'organites endommagés tels que les mitochondries ou les peroxysomes, ce qui entraîne la fusion spécifique des lysosomes avec ces organites. Selon l'organite ciblé, la vésicule autophagique résultante est désignée par un nom spécifique, par exemple (mitophagie, peroxophagie) (Dice, 2007). Dont les résultats de Li et al. (2022) ont montré que l'exposition à l'IMI induisait une autophagie

accompagnée avec l'expression des différents marqueurs d'autophagie avancés BCL2 Interacting Protein 3 (BNIP3), Beclin 1 et Microtubule-associated protein light chain 3 (LC3 II / I), dans les cellules tueuses induite par une cytokine (CIK (cytokine induced Killer)), réduisait les niveaux de MicroRNA 451 (miR-451), augmentait l'expression de calcium binding protein 39 (Cab39) et AMP-activated protein kinase (AMPK), inhibait la signalisation protein kinase B (AKT)/ mammalian target of rapamycin (mTOR) et activait le The c-Jun N-terminal kinase (JNK).

- **Régulateurs de l'autophagie**

L'autophagie peut être induite par la privation de nutriments, l'hypoxie, les ERON, les agrégats de protéines et les organites endommagés, l'activation de l'autophagie par ces stimuli implique de multiples voies de signalisation. Par exemple, la cible mécaniste de la rapamycine (mTOR) qui est une protéine kinase sérine/thréonine, régule négativement l'activation de l'autophagie, où dans des conditions riches en nutriments, mTOR phosphoryle Autophagy Related 13 (Atg13 : facteur d'autophagie requis pour la formation d'autophagosome) au niveau de plusieurs résidus sérine. La phosphorylation d'Atg13 réduit son affinité et son activité pour Atg1/ Unc-51 Like Autophagy Activating Kinase 1 (ULK1). Par contre lors de l'inhibition de mTOR, par exemple par famine, la phosphorylation d'Atg13 par mTOR est réduite, permettant l'activation de l'activité kinase d'Atg1/ULK1 et de l'autophagie (**Kamada et al., 2000**), aussi autres régulateurs négatifs de l'autophagie telles que B-cell lymphoma 2 (Bcl-2), B-cell lymphoma-extra large (Bcl-XL) et Myeloid leukemia 1 (Mcl-1). Ces protéines se lient au domaine Bcl 2 homology 3 (BH3) de Beclin-1 et inhibent l'induction de l'autophagie (**Pattingre et al., 2005 ; Maiuri et al., 2007**), d'autre coté ces protéines proapoptotiques BH3 peuvent induire l'autophagie en perturbant de manière compétitive l'interaction entre Beclin-1 et Bcl-2 ou Bcl-XL (**Maiuri et al., 2007**). De plus, la protéine kinase associée à la mort (DAPK) peut favoriser la dissociation de Beclin-1 de Bcl-XL et induire l'autophagie en médiant la phosphorylation du domaine BH3 de Beclin-1 (**Zalckvar et al., 2009**).

- **Nécrose**

La nécrose est une autre forme incontrôlée de mort cellulaire induite par une blessure externe, comme l'hypoxie ou l'inflammation (**Elmore, 2007**). Ce processus implique l'activation des différents facteurs protéiques et des composés pro-inflammatoires, tels que le facteur nucléaire- κ B (Nf- κ B), ce qui entraîne la rupture de la membrane cellulaire et provoque le déversement du contenu de la cellule dans les zones environnantes, ce qui entraîne une cascade d'inflammation et de dommages tissulaires. La nécrose est indépendante de l'énergie, elle se produit quand la

cellule est si gravement endommagée par un choc soudain (rayonnement, chaleur, produits chimiques, hypoxie, etc...) où elle est incapable de fonctionner et elle ne parvient pas à maintenir l'homéostasie avec son environnement. Donc, la cellule répond généralement par un gonflement (un processus connu sous le nom d'oncose) (D'Arcy, 2019). L'étude de Dhouib et al. (2017) a montré la présence d'un grand nombre de cellules nécrotiques chez des rats traités par l'acétamipride pendant 21 jours.

2.1.7. La neurotoxicité de THI

L'équipe d'EFSA (2019) a montré une diminution de l'activité locomotrice chez des rats traités avec une dose de 3.1mg/kg poids corporel de THI. Dans une autre étude, quand les rats sont traités par une forte dose de THI, les résultats ont montré que cet insecticide pourrait causer des troubles dans le SNC (maladie d'Alzheimer, maladie de Parkinson, schizophrénie, dépression) qui sont censés être associés à une altération de la densité de nAChRs (Cimino et al., 2017).

2.1.8. Amandes amères des noix d'abricot *Prunus armeniaca L.*

Les vertus pharmacologiques et thérapeutiques des extraits des plantes médicinales sont donc nombreuses dans la tradimédecine qui ne cesse d'être admise dans les laboratoires de la recherche des phytosubstances pharmaceutiques, afin de repérer et développer des molécules polyphénoliques plus efficaces dans leur bioactivité thérapeutique envers des différentes pathologies. Il nous importe d'investir donc dans cette présente étude certains extraits phytochimiques (extrait des amandes amères des noix d'abricot) susceptibles d'avoir un potentiel antioxydant et cytoprotecteur dans le cas des différentes fenêtres d'expositions des animaux de laboratoires aux THI.

2.1.9.1. Généralités

L'abricotier (*Prunus armeniaca L.*) membre de la famille des Rosacées (Kovacova et al., 2020), c'est une espèce d'origine d'Asie centrale, de la Chine occidentale, d'Iran et du Caucase. Cette famille est très souvent implantée dans les régions chaudes, le fruit de l'abricotier possède un noyau dur contenant une seule grosse graine, ou amande (Aamazadeh et al., 2020). ces amandes sont classées en fonction de leur goût en amandes doux, amandes semi amère et amandes amère (Kopceková et al., 2017). Quelques études ont rapporté que l'amande amère d'abricot possède un certain nombre de propriétés pharmacologiques comme l'activité antioxydante, anticancéreux, antiasthmatiques et anti-inflammatoire (Li et al., 2016 ; Aamazadeh et al., 2020) (figure16).



Figure 16. Les amandes amères des noix d'abricot, avec et sans coque (*Prunus armeniaca* L.)
(Réalisation personnelle)

2.1.9.2. Composition chimique des amandes amères des noix d'abricot

L'amande amère a une odeur unique due au 3-méthylbutanal et 2-méthylbutanal présente dans ses graines, ainsi elle contient des composés polyphénoliques comme l'acide vanillique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide hydroxycinnamique et des flavonoïdes comme la myricétine, la naringénine et le kaempférol. De plus, elle est une bonne source en phytostérols, β sitostérol, ergostérol, α -tocophérol, δ -tocophérol, et rétinol, en outre l'amygdaline qui représente 3% de la composition d'amande amère. Ajouté à cela, la présence des différents minéraux, tels que Zn, Mg, Fe, Ca^{+2} et K, et des vitamines, en particulier vitamine E, K, D. L'amande amère renferme également environ 30% de protéines, 60% glucides et 48% de matières grasses où les principaux acides gras présents sont en l'occurrence l'acide oléique (70,61%) et l'acide linoléique (20,68%) (Górnaś et al., 2017 ; Moradi et al., 2017).

2.1.9.3. Propriétés pharmacologiques

- **Activité anticancéreuse**

Amygdaline appelée aussi vitamine B17 ou laetrile, l'un des composés les plus importants de l'amande amère, cette molécule est connue pour être une substance anticancéreuse (Moradi et al., 2017). Une recherche récente a démontré que l'extrait d'amande amère d'abricot possède des propriétés antiprolifératives (induisant l'apoptose) sur des lignées cellulaires de cancer du foie. De plus, cette étude a également révélé que différents extraits d'amande amère d'abricot ont une action pro-apoptotique spécifique sur les cellules cancéreuses du pancréas (Aamazadeh et al., 2020). Il a également été observé que les amandes amères d'abricot présentent une propriété

pré-apoptotique sur les cellules kératinocytes, qui sont les cellules constitutives de la peau (Li et al., 2016).

Activité anti-inflammatoire

Une étude précédente ayant utilisé 34 personnes dans expérience de consommation d'amande amère d'abricot avec une dose de 60mg/kg, a montré la réduction de la production des cytokines et des autres molécules inflammatoires (prostaglandines) (Tušimová et al., 2017) et supprimer la voie inflammatoire COX-2 selon les résultats de (Chang et al., 2005).

Activité antiasthmatiques

L'amygdaline a des effets antitussifs et anti-asthmatiques, dont l'acide cyanhydrique résultant de l'hydrolyse de l'amygdaline pourrait diminuer le mouvement respiratoire, dans une expérience réalisé sur des animaux ayant le syndrome de détresse respiratoire a révélé que l'amygdaline pouvait améliorer la formation de surfactant pulmonaire et soulager la maladie (Song and Xu, 2016). Ajouté à cela, cette métabolite a un effet répressif sur les lésions pulmonaires aiguës produites par les lipopolysaccharides, il inhibe NF-κB (facteur nucléaire kappa-light-chain-enhancer de lymphocytes B activés) et les voies de signalisation du gène NLRP3 (NOD-like" receptor (NLR) family pyrin domain containing 3) (Zhang et al., 2017).

Rôle dans le système immunitaire

L'amande amère d'abricot peut favoriser la prolifération des lymphocytes T humains et augmenter les lymphocytes sanguins qui sécrètent l'IL-2 et l'interféron, empêchant ainsi TGF-β1 (Transforming growth factor beta), améliorant ainsi la réponse immunitaire (Qadir and Fatima, 2017).

Effet sur le système digestif

L'amygdaline des amandes amères d'abricot augmente la teneur en hydroxyproline, qui inhibe l'extension du temps de lyse des euglobulines (Song and Xu, 2014)

Activité antimicrobienne

Des études ont montré que l'amande amère d'abricot présente des propriétés antibactériennes contre différentes souches telles que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* (Yigit et al., 2009). De plus, elle a également montré une activité antifongique contre *Candida Albicans* (Aamazadeh et al., 2020).

Activité antioxydante

L'étude de Stryjecka et al. (2019) a montré que les polyphénols et les tocophérols des amandes amères des noix d'abricot constituent un groupe des composés qui agissent comme des

antioxydants et jouant un rôle crucial dans le maintien de la stabilité et l'intégrité de la membrane cellulaire.

2.1.9.4. Mode d'action des composants des amandes amères des noix d'abricot

Selon la littérature consultée, il s'avère que le mode d'action des différentes composantes de ces amandes est limité à des activités antioxydantes par le biais des polyphénols d'une part et d'autre part par les vitamines antiradicalaires et des bioactivités assurées par l'amygdaline. En effet, l'amygdaline ou Latreille (Amygdaloside mandelonitrile- β -gentioioside Neoamygdalin) (vitamine B17) est un glycoside cyanogénique, responsable de la plupart des activités pourvues par ces amandes. L'amygdaline est une molécule composée de quatre parties ; 2 parties de glucose, 1 partie de benzaldéhyde, 1 partie de cyanure d'hydrogène (qui se trouve également dans la vitamine B-12). Lorsque la vitamine B17 est introduite dans l'organisme, elle est décomposée par l'enzyme Rhodanèse. Cette dernière décompose le cyanure d'hydrogène et le benzaldéhyde en deux sous-produits, le thiocyanate et l'acide benzoïque, qui sont bénéfiques pour nourrir les cellules saines et forment le pool métabolique pour la production de la vitamine B12 (**Bolarinwa et al., 2014 ; EFSA, 2016**).

L'utilisation des amandes amères des noix d'abricot pour lutter contre le cancer a suscité un certain intérêt chez les chercheurs, car on pensait que l'amygdaline était d'abord absorbée par les cellules cancéreuses et transformée en cyanure. Les cellules cancéreuses dépourvues de rhodanèse pour le décomposer et le neutraliser. Cependant les cellules cancéreuses sont pourvues d'une enzyme permettant d'hydrolyser et métaboliser la fraction glycoside qui est la bêta-glucosidase. Lorsque la vitamine B17 est métabolisée, une réaction chimique se produit le cyanure d'hydrogène et le benzaldéhyde se combinent en synergie pour produire un poison qui détruit et tue les cellules cancéreuses. L'ensemble de ce processus est connu sous le nom de toxicité sélective. Seules les cellules cancéreuses sont spécifiquement ciblées et détruites (**Griffin, 1974 ; Blaheta et al., 2016 ; Mondal, 2018**) (**Figure 17**).

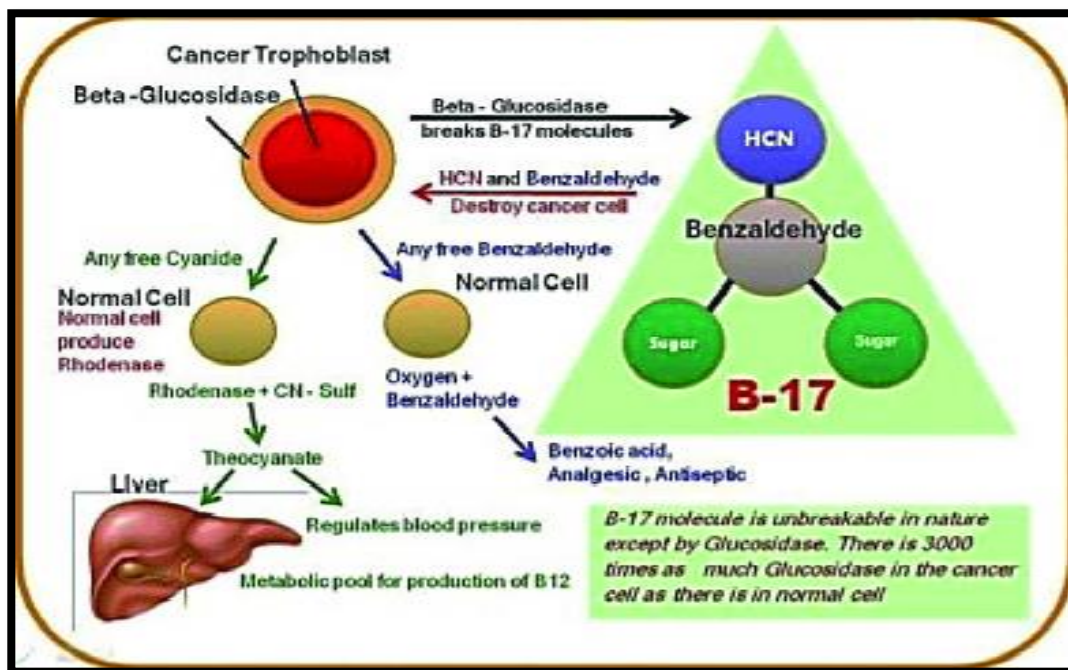


Figure 17. Action de Laetrile (Vit B17) sur le Cancer (Amany et al., 2020).

2.1.9.5. Toxicité des amandes amères des noix d'abricot

La toxicité de l'amande amère d'abricot est due principalement à la présence d'amygdaline. La concentration d'amygdaline absorbée joue un rôle crucial dans la toxicité du cyanure dans le corps (Abraham et al., 2016), la LD₅₀ de l'amygdaline chez le rat est de 880 mg/kg de poids corporel par voie orale (Park et al., 2013). Le mode d'action du cyanure est l'inhibition compétitive contre l'O₂ du cytochrome c oxydase a₃ bloquant ainsi la phosphorylation oxydative, ce qui provoque par conséquent une diminution de l'utilisation de l'oxygène par les tissus et une augmentation du métabolisme anaérobie. L'accumulation de cyanure peut entraîner une augmentation de l'acide lactique, ce qui provoque une acidose métabolique donc la perturbation des fonctions vitales des cellules. Chez l'homme, une intoxication au cyanure peut se manifester par des symptômes tels que des nausées, de la fièvre, une respiration irrégulière, une perte de conscience, des convulsions et, dans les cas les plus graves, une asphyxie et un coma (Abraham et al., 2016).

2.1.9.6. Effets neurocytoprotecteurs des amandes amères des noix d'abricot

Selon la littérature l'extrait des amandes amère des noix d'abricot présente une richesse en flavonoïdes, fer, potassium, amygdaline et tocophérols qui sont des substances antioxydantes agit comme des agents neuroprotecteurs efficaces (**Li et al., 2016 ; Vahedi-Mazdabadi et al., 2019**). De plus, les résultats de **Moeen et al. (2018)** ont montré que l'extrait des amandes amères des noix d'abricot capable de réduire les effets toxiques des pesticides qui est montré par une réduction des ERON et une augmentation significative de l'activité enzymatique de CAT, SOD. D'autres travaux de **Vanzour (2008) et Dajas (2003)** ont montré que les amandes amères des noix d'abricot ont un effet neuroprotecteur grâce à sa richesse en flavonoïdes et polyphénols.

Chapitre 3

Hépatotoxicité de THI et bioactivité de l'extrait de *P. armniaca* L.

3. Hépatotoxicité de THI après une exposition chronique chez le rat adulte et bioactivité de l'extrait des amandes amères des noix d'abricot *Prunus armeniaca* L.

3.1. Généralité sur le foie

Le foie, également appelé glande hépatique, est un organe vital chez les vertébrés, situé dans la partie supérieure droite de l'abdomen. Il joue un rôle essentiel dans l'épuration des substances absorbées par les intestins, la synthèse de différentes molécules et le stockage de nutriments qui peuvent être utilisés comme source d'énergie par les cellules de tout le corps. De plus de ces fonctions, le foie participe aux réactions immunitaires, au métabolisme de nombreux médicaments et contribue à l'équilibre hormonal. Chez les humains, le foie est un organe unique et asymétrique, occupant la région de l'hypocondre droit, la partie supérieure de la région épigastrique et l'hypocondre gauche, représentant environ 2% du poids corporel avec une moyenne d'environ 1500 grammes, donc est l'organe le plus volumineux des organes internes, et le responsable d'un grand nombre de réactions chimiques dans l'organisme (Soltys et al., 2010 ; Lucey et al., 2013). Le foie est irrigué principalement par l'artère hépatique et la veine porte. Il est traversé par 1,4 litre de sang en moyenne à chaque minute. L'artère hépatique est responsable de l'apport d'oxygène, tandis que la veine porte est responsable de l'apport des nutriments de l'intestin. Le retour veineux est assuré par les veines hépatiques, qui se jettent ensuite dans la veine cave inférieure qui retourne au cœur (Dooley and Ten Dijke, 2012) (Figure 18).

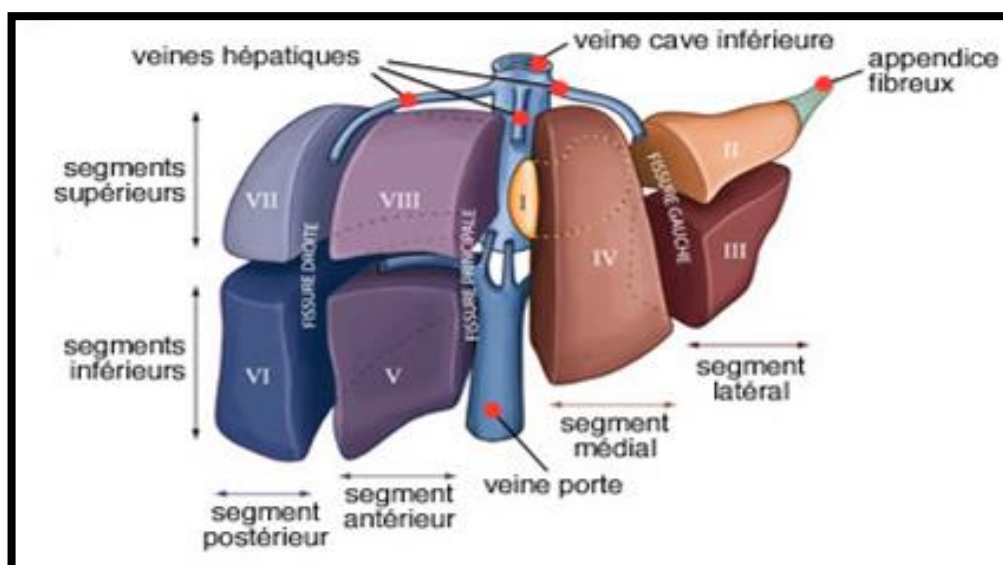


Figure 18. Anatomie hépatique du foie (Trevisani et al., 2015).

3.2. Cellules du foie (Figure 19)

- **Les hépatocytes** ; représentent environ 80% des cellules de foie, mesurant entre 18 et 24 μm de diamètre, et ils contiennent un ou deux noyaux. Les hépatocytes sont des cellules polarisées, où elles ont une face exposée au sang qui est séparée par un endothélium, et de l'autre côté, elles forment un réseau de canaux biliaires adjacents à leurs membranes. Les hépatocytes jouent un rôle essentiel dans la détoxification de la grande majorité des substances étrangères (xénobiotiques) et le maintien de l'homéostasie du foie. Rajouté à cela, les hépatocytes ont une fonction exocrine, qui consiste à synthétiser et sécréter la bile dans les canalicules biliaires, et une fonction endocrine, qui implique la synthèse et la sécrétion de protéines plasmatiques qui sont ensuite libérées dans les espaces de Disse. (**Laperche, 2003 ; Laperche, 2007 ; Sokal 2009 ; Savary, 2014**).
- **Les cellules non parenchymateuses** qui sont les **cellules épithéliales biliaires ou cholangiocytes** ; représentent environ 1% des cellules du parenchyme, elles sont localisées dans les canaux biliaires et composent l'épithélium qui les tapissent (**Benedetti et al., 1996 ; Savary, 2014**). Et les **cellules sinusoidales (endothéliales)** qui n'ont pas de lame basale, mais ont plutôt de nombreuses fenêtres qui permettent le passage de divers nutriments et d'autres molécules, elles représentent environ 20 % du nombre total de cellules de la paroi d'un vaisseau sanguin (capillaire en forme de sinus) et favorisent les échanges entre le milieu sanguin et les cellules hépatiques (**Savary, 2014**).
- **Les cellules fusiformes de Kupffer** ; sont des macrophages présents dans le foie, représentant environ 2% de la masse du tissu hépatique. Elles se trouvent dans les sinusoides hépatiques et sont attachées aux structures sous-endothéliales grâce à leurs pseudopodes. Ces cellules jouent un rôle crucial dans la fonction immunitaire du foie. Où elles produisent des cytokines à la fois pro-inflammatoires et anti-inflammatoires, ce qui leur entraîne l'élimination des diverses substances toxiques et de moduler la réponse immunitaire dans le foie (**Tsutsui and Nishiguchi, 2014 ; Wenfeng et al., 2014**).
- **Les cellules étoilées** ; également connues sous le nom de lipocytes, elles se trouvent dans les espaces de Disse, où elle situés entre les cellules sinusoidales et les hépatocytes. Les lipocytes stockent les graisses, et aussi les vitamines. Ces cellules sont impliquées dans la fibrogenèse hépatique et impliquées dans les processus inflammatoires, elle indiquent également la cirrhose hépatique (**Blanc et al., 1997**).

- **Les cellules ovales** partagent de nombreuses propriétés des hépatoblastes. Elles possèdent la capacité de se différencier en hépatocytes fonctionnels ou en cellules biliaires, donc elles jouent un rôle dans le processus de régénération hépatique (**Ding et al., 2014**).
- **Les lymphocytes et cellules dendritiques** ; Il y a environ de 10^{10} lymphocytes dans le foie et plus précisément localisés le long des sinusoides. Où le foie est le centre d'importante réponse d'immunité innée et une partie des éléments impliqués dans la réponse acquise (**Parker and picut, 2005**).

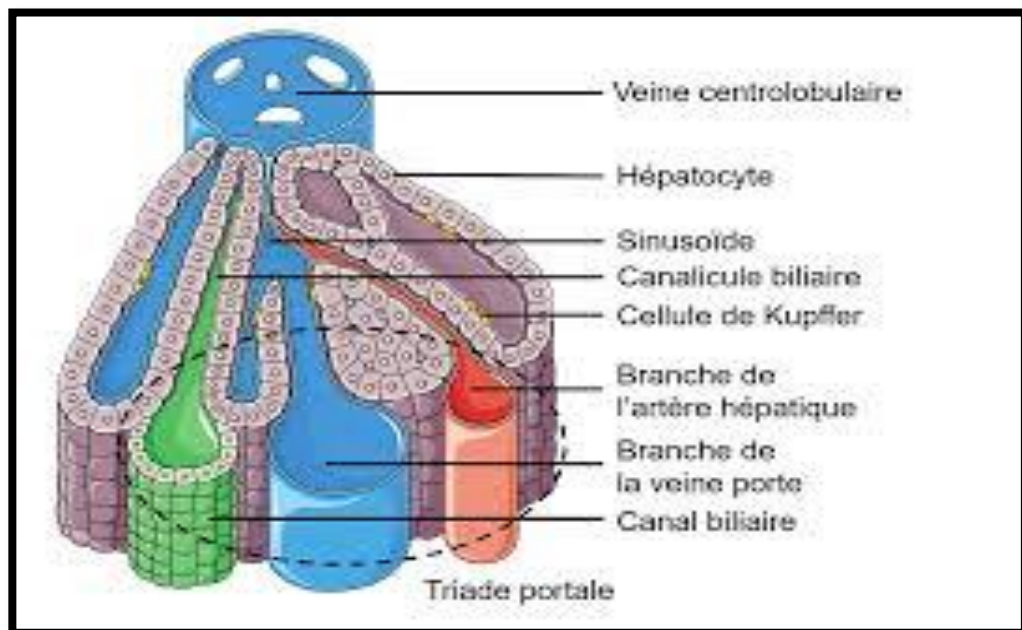


Figure 19. Les cellules de foie (**Bessagnet and Desmoulière, 2021**).

3.3. Les Fonctions du foie

Les principales fonctions du foie sont :

- **Le stockage et la répartition des nutriments issus de la digestion** ; Le foie est responsable du stockage des vitamines liposolubles (A, D, E et K), ainsi que du glucose sous forme de glycogène. De plus, le foie est l'organe clé dans la régulation de l'homéostasie du cholestérol. Il assure également la synthèse du cholestérol et des acides gras endogènes (**Trevisani and Garuti, 2015**).
- **Métabolisme hépatique** : le foie joue un rôle crucial dans l'équilibre énergétique et le métabolisme des glucides (néoglucogénèse, glycogénèse), des lipides (synthèse des acides biliaires et synthèse des acides gras et des lipoprotéines, synthèse et excrétion du cholestérol et cétogénèse 25-Hydroxylation de la vitamine D), et synthèse des protéines plasmatiques et de l'urée. Il est également responsable sur la biotransformation

hormonales et dégradation des hormones stéroïdiennes et les hormones polypeptides) (Marchall and Bangert, 2004 ; Rui, 2014).

- **La dégradation des substances toxiques ;** l'organisme est sans cesse exposé à des composés exogènes indésirables qu'il doit éliminer. Chez les mammifères, le siège majeur de la biotransformation des xénobiotiques est le foie, Le foie joue un rôle crucial dans le processus de dégradation de l'hémoglobine, qui aboutit à la production de bilirubine libre. Cette bilirubine est ensuite transportée vers la bile, où elle est excrétée dans les intestins. Les produits gras solubles sont également éliminés dans la bile et re-entrent dans les intestins, pour être excrétés dans les selles. Quant aux produits hydrosolubles, ils sont réacheminés dans le sang, puis éliminés par les reins dans l'urine. Ainsi, le foie joue un rôle central dans la détoxification et l'élimination des substances métaboliques et toxiques de l'organisme, assurant ainsi son bon fonctionnement (Zhou and Lei, 2014 ; Njei et al., 2015 ; Tian and Singal, 2015). Le foie absorbe certains des substances actives du médicament et les élimine également (Trevisani and Garuti, 2015) (figure 20).

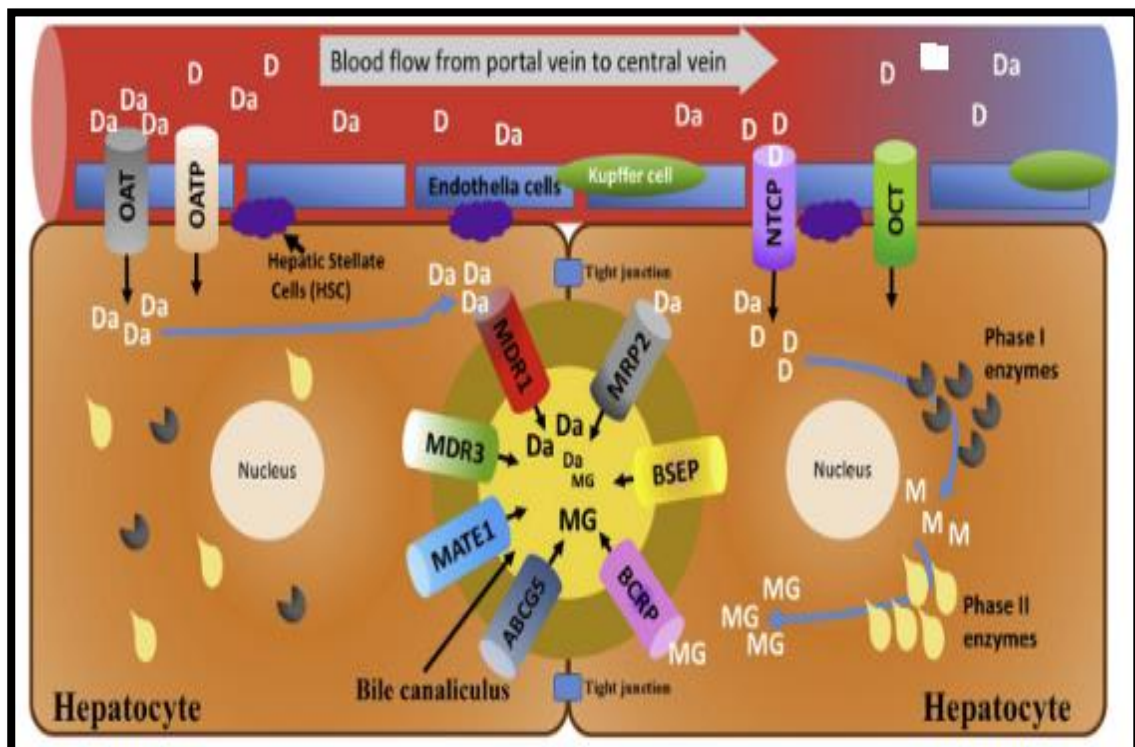


Figure 20. Les différentes voies de biotransformation et excrétion des xénobiotiques dans l'hépatocyte (Almazroo et al., 2017).

(D et Da : sont 2 différents médicaments, M : métabolite, MG : métabolite glucuronide, enzymes de phase I : les cytochromes P450, enzymes de phase II : les enzymes de conjugaison : les glucuronyl-transférases). . **MRP2** : The multi-drug resistance protein 2, MATE1: multidrug and toxin

extrusion 1, **MDR1** et **MDR3**: multidrug resistance genes class 1 et 3, **BSEP**: The bile salt export pump, **BCRP**: Breast cancer resistance protein, **OCT**: Ornithine carbamoyltransferase, **NTCP**: sodium ion/bile acid cotransporter, **ABCG5** : Sterol Transporter.

- **La synthèse de la plupart des protéines du sang** : Les cellules hépatiques jouent un rôle essentiel dans la synthèse des protéines à partir des acides aminés provenant de la digestion des protéines alimentaires. (Zhou and Lei, 2014 ; Njei et al., 2015 ; Tian and Singal, 2015).
- **La production de la bile** ; les cellules hépatiques sécrètent en permanence de la bile qui est une liquide jaunâtre contenant de la bilirubine, des acides biliaires (l'acide cholique et l'acide chénodésoxycholique chez l'homme et les rats), du cholestérol, de la lécithine et de nombreux autres composants (Zhou and Lei, 2014) (figure 21).

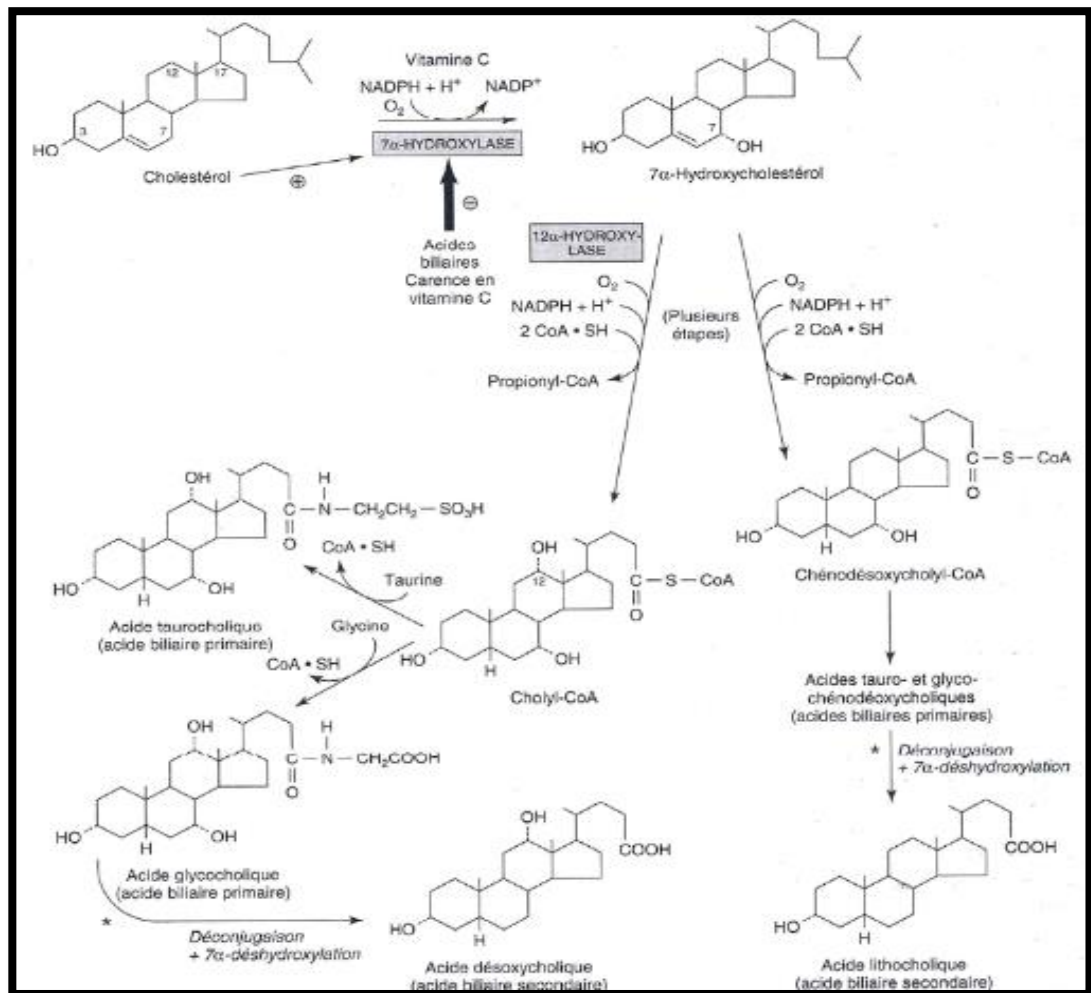


Figure 21. Formation des acides biliaires (Agellon, 2008).

3.4. Hépatotoxicité induite par le THI

Les travaux de **Vivek and Jain (2020)** ont enregistré une grande augmentation des marqueurs hépatique (aspartate aminotransférase (AST), alanine aminotransférase (ALT), bilirubine... etc) après l'exposition des rats au THI pendant 24h et 28 jours avec différentes les doses (5 et 10%). De plus d'après l'étude de **Hendawi et al. (2011)**, l'administration orale de THI à une dose de 22,5 mg / kg de poids corporel pendant 30 jours a induit une augmentation significative dans l'activité des enzymes sériques liées aux lésions hépatiques : ALT et phosphatase alcaline (ALP). Dans une autre étude montre que le traitement des rats avec différentes doses de THI pendant 28 jours a entraîné une hépatomégalie, un carcinome hépatocellulaire et une dégénérescence du cytoplasme (**Alarcan et al., 2020**). Selon les études de **Casida en 2011**, Les métabolites desnitro, descyano et THI-oléfine (**figure 6**) ont des puissances toxiques similaires à celui de la nicotine, de plus la même référence montre que ces métabolites ont une hépatotoxicité et hépatocarcinogénicité chez les souris.

3.5. Effets hépatocytoprotecteurs des phyto-substances

Les phyto-substances exercent des effets hépatoprotecteurs, ces effets ont souvent été attribués à leurs propriétés antioxydantes et à leur capacité à améliorer le système de défense antioxydant endogène. En raison de l'implication du stress oxydatif dans tous les mécanismes de lésion hépatique, donc ces phyto-substance qui possèdent des propriétés antioxydantes peuvent jouer un rôle clé dans le mécanisme de leur activité hépatoprotectrice (**Domitrović and Potočnjak, 2016**). Les travaux de **Karabulut et al. (2014)** et **Dawod and Ahmed (2021)** ont montré que le traitement par les amandes amères des noix d'abricot réduit l'incidence des lésions hépatiques et amélioreraient l'anomalie des hépatocytes. Où la présence des flavonoïdes, des caroténoïdes, de β -carotène, des composés phénoliques et d'acides gras tels que l'acide oléique et l'acide linoléique pourraient avoir des effets de piégeage des radicaux libres, et pourrait potentialiser de leurs effets cyto-protecteurs (**Ramadan et al., 2020**).

PARTIE
EXPERIMENTALE

Chapitre 1

Etude phytochimique de l'extrait hydroalcoolique de *P. armeniaca* L.

1. Etude phytochimique de l'extrait hydroalcoolique des amandes amères d'abricot *Prunus armeniaca* L.

1. Matériels et Méthodes

1.1. Récolte et séchage du matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des amandes amères des noix d'abricot (*Prunus armeniaca* L.), l'abricot est récolté dans la commune d'Ain-Elkhadra (la wilaya de M'sila) durant la période allant du mois de mai 2019 jusqu'au mois de juillet 2019. L'identification de la plante a été réalisée par le Pr. Bakdouche Farid, département de l'écologie et l'environnement, université de Batna 2. Après la récolte des abricots, les noyaux ont été obtenus après dénoyautage puis les concasser pour obtenir l'amande, cette dernière est séchée à la température ambiante et à l'abri de la lumière, ensuite, elle est broyée finement à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Cette poudre est ensuite stockée dans des boîtes hermétiquement fermées pour assurer sa conservation

1.1.1. Extraction

L'extraction se fait par macération selon la méthode de **Minaiyan et al. (2014)**, où une masse de 30g de la poudre des amandes est macérées dans 90 mL d'éthanol aqueux (70:30) pendant 72 heures sous agitation continue. Le mélange est ensuite filtré sur une gaze puis sur papier wattman (3 mm), le filtrat a été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40°C (RE100-Pro, DLAB Scientific Co., China) qui permet d'éliminer le solvant sous vide, les aliquotes obtenues sont placées dans des boites de pétri puis séchées dans une étuve à 40°C jusqu'à l'obtention d'un extrait sec (EXT), ce dernier est gratté et conservé à 4°C dans un flacon hermétiquement fermé.

1.1.1. 1.Calcul de rendement

Le rendement (R%) en extrait brut sec est calculé comme suit :

$$R\% = \frac{m}{M} \times 100$$

R% : rendement exprimé en %

m : masse de l'extrait sec exprimé par gramme

M : masse de la poudre végétale à traiter

1.1.2. Criblage phytochimique de l'extrait hydroalcoolique

- **Polyphénols** : Réaction au FeCl_3 , où quelques gouttes de perchlorure ferrique (FeCl_3) (10%) sont ajoutées à 2 mL d'extrait, la formation d'un précipité noir-verdâtre intense fut le signe de la présence des polyphénols (**rajeshwar and lalitha, 2013**).
- **Flavonoïdes** : Test de chlorure d'aluminium, où quelques gouttes d'une solution d' AlCl_3 (1%) sont ajoutées à 1ml filtrat, l'apparition d'une couleur jaune indique la présence des flavonoïdes (**Belfekih et al., 2017**).
- **Tanins** : la détection des tanins, consiste à mélanger 5 mL d'une infusion (5%) de la poudre de la plante avec 1 mL d'une solution diluée à 1% de FeCl_3 dans l'eau. Si une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre apparaît, cela indique la présence de tanins (**Belfekih et al., 2017**). Aussi, le test au NaOH 10% ; l'agitation de 0.4mL d'extrait avec 4mL de NaOH 10%, conduit à la formation d'une émulsion indiquant la présence des tanins (**Singh and Kumar, 2017**).
- **Saponosides** : dans un tube à essai on dissout quelques mg d'extrait dans l'eau distillée et on agite vigoureusement pendant au moins 5 minutes. L'apparition d'une colonne de mousse d'environ 1cm et persistant au moins 15 minutes indique la présence de saponosides (**rajeshwar and lalitha, 2013**).
- **Stéroïdes** : 5mL d'extrait est ajoutés à 5 mL d'anhydride acétique, la solution est transférée dans un autre tube à essai, auquel on ajoute 0,5 mL d'acide sulfurique concentré. Si une coloration violette apparaît, qui évolue ensuite vers le bleu puis le vert, cela indique la présence de stéroïdes es (**Harborne, 1998**).
- **Polyterpènes et stérols** ; Réaction de Lieberman-Burchard, dans la quelle 1 mL d'extrait est mélangé avec 0,5 mL d'anhydride acétique, suivi de l'ajout de 0,5 mL de chloroforme. Après dissolution, la solution est transférée dans des tubes à essai auxquels on ajoute 1 mL d'acide sulfurique concentré. Si un anneau rouge brunâtre ou violet se forme, avec une coloration de la couche supérieure de la solution devenant verte ou violette, cela indique la présence de stérols et de polyterpènes. (**Bruneton, 1999**).
- **Anthocyanes** ; ils sont révélés par l'addition de 5mL d'acide sulfurique (10%) aux 5 mL d'infusé (5%) de la poudre de l'amande, Lorsque 5 mL d'une solution d'hydroxyde d'ammonium dilué à 50%, une coloration rose rougeâtre apparaît en milieu acide, qui vire ensuite au bleu violacé. Cette coloration indique la présence des anthocyanes (**Hadjaj, 2017**). Un autre essai est possible par autre test, où quelque mL d'extrait mélangé avec d' H_2SO_4 à 10 % et de NH_4OH à 10 %, conduit à l'apparition d'une couleur

bleue en milieu basique, indiquant la présence des anthocyanes (**Balamurugan et al., 2019**).

- **Les Alcaloïdes** ; Test de Mayer : quelques mL de filtrat sont en ajouter à 1-2 gouttes de réactif de Mayer (**Annexe 09**). L'apparition d'un précipité blanc crémeux/jaune révèle la présence des alcaloïdes (**Auwal et al., 2014**), aussi le test de Dragendorff (**Annexe 11**) : quelques mL de filtrat sont en ajouter à 1-2 mL de réactifs de Dragendorff, conduisant à l'apparition d'un précipité brun rougeâtre (**Silva et al., 2017**).
- **Les sucres réducteurs** ; 1 mL de l'extrait est mélangé à 2 mL de liqueur de Fehling (1 mL de réactif A et 1 mL de réactif B). Le mélange est ensuite incubé dans un bain-marie bouillant pendant 8 minutes. Si des composés réducteurs sont présents, un précipité rouge brique se forme, ce qui indique leur présence dans l'extrait (**Raaman, 2006**).
- **Les Coumarines** ; mélanger 5 mL d'extrait avec 0,5 mL de NH₄OH (10%) et observer sous UV à 366 nm, la fluorescence intense indique la présence de \$s coumarines (**Balamurugan et al., 2019**).
- **Carbohydrates totaux** ; Test de Molish : 2 mL d'extrait mélanger avec 2 gouttes d' α -naphthol alcoolique, on ajoute 1mL de H₂SO₄ concentré, l'apparition d'un anneau violet indique la présence des carbohydrates (**Singh and Kumar, 2017**).
- **Les protéines et les acides aminés** ; Test de Biuret : mélanger 2mL d'extrait avec 1 goutte de sulfate de cuivre à 2% et 1 mL d'éthanol à 95% et des pastilles de KOH, conduit à l'apparition de couleur rose indiquant la présence des protéines (**Silva et al., 2017**).
- **La tyrosine** ; Test xanthoprotéique : ajouter quelques gouttes d'acide nitrique concentré à un extrait. La présence d'un couleur jaune indiquant la présence des tyrosine (**Tiwari et al., 2011**).
- **Les lignines** ; Test au furfural : mélanger quelque mL d'extrait avec une solution de furfural à 2%, une couleur rouge indique la présence des lignines (**Sheel et al., 2014**).
- **Les quinones** ; Test KOH alcoolique ; 1 mL d'extrait mélanger avec quelques mL d'hydroxyde de potassium alcoolique, l'apparition de couleur rouge à bleue révèle la présence de quinones (**Kumar et al., 2013**).

1.1.3. Dosage des polyphénols totaux

La quantification des composés phénoliques totaux a été réalisée en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu (**Singleton et Rossi, 1965**). Cette méthode repose sur la réduction des réactifs phosphotungstique et phosphomolybdique du réactif de Folin-Ciocalteu par les groupements

réducteurs des composés phénoliques en milieu alcalin, ce qui entraîne la formation d'un produit de réduction de couleur bleue. Ce produit présente une absorption maximale à 765 nm (**Achat, 2013**). Le dosage des polyphénols a été effectué selon la méthode de **Wong et al. (2006)**. Dans cette méthode, 200 µL de l'extrait ont été ajoutés à 1000 µL du réactif de Folin-Ciocalteu (10%). Après 4 minutes, 800 µL de solution aqueuse de bicarbonate de sodium (10%) ont été ajoutés au mélange réactionnel. Après 2 heures d'incubation à température ambiante et dans l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 765 nm. Une courbe d'étalonnage a été établie en utilisant de l'acide gallique avec une gamme de concentrations de 0 à 100 µg/mL. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait) (**Boizot and charpentier, 2006**).

1.1.4. Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium décrite par **Bahorun (1996)**. Où les flavonoïdes donnent des complexes de couleur jaune avec le chlorure d'aluminium, l'intensité de la couleur de ces complexes est mesurable à 430 nm. Brièvement, 1 mL d'extrait est ajouté à 1 mL d'une solution d'AlCl₃ (2%) préparée dans le méthanol. Après une incubation de 10 minutes, l'absorbance est mesurée à 430 nm. La concentration en flavonoïdes est déterminée en utilisant une gamme d'étalonnage établie avec de la quercétine dans une plage de concentrations de 2,5 à 40 µg/mL. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait) (**Donzo et al., 2015**).

1.1.5. Dosage des tannins totaux

Le dosage des tannins totaux a été effectué en utilisant le réactif de Folin-ciocalteu par la méthode décrite par **Schanderl (1970)**. La méthode utilisée repose sur la réduction de l'acide phosphomolybdique et tungstique en milieu alcalin en présence de tannins. Cette réaction conduit à la formation d'un complexe se couleur bleue qui peut être mesuré à une longueur d'onde de 760 nm. En bref, le milieu réactionnel contient 1mL d'extrait hydroalcoolique des amandes amères d'abricot de différents concentration mélanger avec 1.25 mL de réactifs folin ciocalteu et 2.5 mL de la solution aqueuse de bicarbonate de sodium (10%), après 30 minutes d'incubation à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 760 nm. La solution de catéchine est utilisée comme solution standard avec une gamme de (0.5-2.5mg /mL) (**Chanwitheesuk et al., 2005**).

1.1.6. Dosage des protéines totales

La méthode de Bradford (1976) a été employée pour estimer la quantité de protéines présentes dans l'extrait. Pour cela, 100 μ L de l'extrait ont été mélangés avec 2 mL du réactif de Bradford (Annexe 10). Ensuite, l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 595 nm contre un blanc. Une gamme d'étalonnage de 0.1 à 2 mg/mL a été préparée en utilisant le sérum albumine bovine (BSA) dans de l'eau distillée. Les résultats obtenus ont été exprimés en milligrammes de protéines par gramme d'extrait.

1.1.7. Dosage des sucres solubles totaux

Les sucres solubles totaux ont été quantifiés en utilisant la méthode décrite par Dubois et al. (1956). Pour cela, 1 mL d'extrait a été mélangé avec 1 mL de phénol à 5% et 5 mL d'acide sulfurique concentré. Ensuite, l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 490 nm en utilisant un spectrophotomètre UV/VIS. Le D-Glucose a été utilisé comme étalon de référence pour établir une courbe d'étalonnage. Les résultats obtenus ont été exprimés en milligrammes de sucres solubles totaux par gramme de poids sec de l'extrait.

1.1.8. Analyse par infrarouge

Le spectre d'absorption IR en phase solide a été enregistré avec le spectromètre infrarouge JASCO FT/IR-4200 X, le domaine de fréquences étudiées est compris entre 4000 et 400 cm^{-1} , ce domaine de fréquence permet la caractérisation des différents groupes fonctionnels dans cet extrait. Brièvement, des pastilles ont été préparées d'abord en mélangeant la poudre de l'extrait hydroalcoolique (0.1 à 1%) avec du bromure de potassium (KBr), l'acquisition des spectres de l'extrait est assurée par un ordinateur incorporé au spectromètre infrarouge (Ameera et al., 2015).

1.1.9. Identification des différents composés de l'extrait hydroalcoolique par HPLC-DAD

L'HPLC est un moyen simple pour identifier et quantifier les différents métabolites d'un extrait. Dans cette partie, les différents composés dans l'échantillon testé ont été analysés par le système HPLC-DAD (SHUMADZU), un modèle : CTO-20A Enable Oven avec SIL-20ACXR Enable Autosampler, un modèle de colonne à phase inversée Hypersil Gold (Ultra C18, ID de colonne : 250 x 4,6 mm) et un modèle de détecteur à matrice de diodes SPD-M20A. Le débit a été maintenu constant tout au long de l'analyse à 1 mL/min et le volume d'injection était de 10 μ L. Les conditions de fonctionnement étaient les suivantes : le solvant A (acide acétique à 1 % / eau ultra-pure) et le solvant B acétonitrile, avec le gradient suivant : 10 % du solvant B de 0.01 à 55

min donc avec 90% de solvant A, ensuite 100 % B de 55 à 65 min avec 0% de solvant A, 10 % B de 65 à 75 min et de 90% de solvant A.

La colonne a été maintenue à 30°C et la détection UV-Visible a été enregistrée dans l'intervalle de longueur d'onde entre 190-800 nm. Les composés d'extrait ont été identifiés en comparant le temps de rétention des spectrogrammes des échantillons avec les valeurs des standards utilisés (Laghari et al., 2011).

1.1.10. Evaluation du pouvoir antioxydant

1.1.10.1. Test au DPPH

Ce test repose sur la capacité des composés présents dans l'extrait à réduire le radical DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) de couleur violette en DPPHH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) de couleur jaune. Cette réduction est le résultat de l'interaction entre les piègeurs de radicaux libres présents dans l'extrait et le radical DPPH• (Markowicz Bastos et al., 2007 ; Massaro et al., 2016), la procédure de ce test est décrite par Huang et al. (2016).

Un volume de 500 µL d'extrait à différentes concentrations a été mélangés avec 2 mL d'une solution méthanolique fraîchement préparée de DPPH (0,04 g/L). Un contrôle négatif a également été préparé en mélangeant 500 µL de méthanol avec 2 mL de la solution méthanolique de DPPH. Après une incubation à l'obscurité pendant 60 minutes à température ambiante, les absorbances ont été mesurées à 515 nm par rapport à un blanc.

Les résultats peuvent être exprimés en IC50 qui indique la concentration d'antioxydants nécessaire pour neutraliser 50% du radical libre dans le milieu, et en pourcentage d'inhibition des radicaux libres (I %), ce qui représente l'activité anti-radicalaire. Cette valeur d'inhibition est calculée à l'aide de la formule suivante:

$$\left(I\% = \frac{\text{Abs Control négatif} - \text{Abs Echantillon}}{\text{Abs Control négatif}} \times 100 \right)$$

Abs Échantillon : Absorbance de l'extrait

Abs control négatif : absorbance de control négatif

1.1.10.2. Test de blanchiment du β-carotène

Le protocole utilisé dans ce test est décrit par Kartal et al. (2007). Cette activité quantifier l'inhibition de la dégradation oxydative du β-carotène par les produits d'oxydation de l'acide linoléique. Pour cela, nous avons préparé une émulsion de β-carotène/acide linoléique en solubilisant 0,5 mg de β-carotène dans 1 mL de chloroforme, puis en ajoutant 25 µL d'acide linoléique et 200 mg de tween 40. Le chloroforme a été évaporé complètement à l'aide d'un

rotavapor à 40°C, puis 100 mL d'eau oxygénée ont été ajoutés et le mélange réactionnel a été agité vigoureusement. Ensuite, 500 µL de solution d'extrait ou d'antioxydant de référence (vitamine E solubilisée dans le méthanol) a été ajoutée à 2,5 mL du milieu réactionnel précédent. Un contrôle négatif contenant 0,5 mL de méthanol à la place de l'essai ou un témoin positif ont été réalisés en parallèle. L'absorbance a été mesurée à 490 nm à intervalles réguliers pendant 48 heures à température ambiante. L'activité antioxydante relative de l'extrait (AAR %) a été calculée selon la formule suivante:

$$AAR\% = \frac{\text{Abs t: 48 h (échantillon)}}{\text{Abs t: 48 h (Vitamine E)}} \times 100$$

Abs t : 48 h échantillon : Absorbance de l'extrait après 48 heures d'incubation

Abs t : 48 h Vitamine E : Absorbance de la vitamine E après 48 heures d'incubation

1.1.10.3. Pouvoir réducteur (PR).

Le potentiel réducteur a été estimé d'après la méthode **d'Oyaizu (1986)** avec une légère modification. Dans cette méthode, nous avons ajouté 40 µL de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 50 µL de K₃FeIII (1 %) à 10 µL de solutions d'extrait à différentes concentrations. Le mélange a été incubé à 50°C pendant 20 minutes, puis 50 µL de TCA (10 %) ont été ajoutés avec 40 µL d'eau distillée et 10 µL de FeCl₃ (0,1 %). L'absorbance a été mesurée à 700 nm par rapport à un blanc. L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif. Les résultats peuvent être exprimés en EC₅₀ (concentrations effectives à la densité optique 0,5), ce qui permet de calculer la concentration de l'extrait nécessaire pour réduire de 50 % les radicaux Fe⁺³.

1.1.10.4. Test au phosphomolybdate (capacité antioxydante totale)

L'évaluation de la capacité antioxydante totale a été réalisée par la méthode de **Prieto et al. (1999)**. Dans cette méthode, nous avons mélangé 0,1 mL d'extrait de différentes concentrations avec 1 mL d'une solution de réactif molybdate contenant de l'acide sulfurique 0,6 M, du phosphate de sodium 28 mM et du molybdate d'ammonium 4 mM. Les tubes ont été incubés à 95°C pendant 90 minutes dans un bain-marie. Après refroidissement des tubes, l'absorbance a été mesurée à 695 nm par rapport à un blanc préparé dans les mêmes conditions. La capacité antioxydante totale a été exprimée en µg d'équivalent acide ascorbique par mg d'extrait.

1.1.11. Activité hémostatique

Ce test est basé sur la mesure du temps de coagulation du plasma décalcifié après recalcification (**Brummel et al., 2002**). Le test a été réalisé *in vitro* sur le plasma sanguin d'un

adulte sain, où le sang a été prélevé sur un tube contenant une solution tampon de citrate de sodium $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ à 3.2%. Le tube a été ensuite centrifugé à 2057 g pendant 15 min pour récupérer le plasma, puis 200 μL de ce plasma ont été placés dans des tubes avec 200 μL d'extrait des amandes amères des noix d'abricot à différentes concentrations (1, 2, 5 et 10mg/mL). Un autre tube à essai vide a servi de témoin qui n'a reçu aucune concentration d'extrait. Les tubes sont maintenus dans un bain marie à 37°C pendant 5min, un volume de 200 μL de chlorure de calcium (CaCl_2 0.025 M) a été ajouté dans chaque tube et le chronomètre a été déclenché extemporanément jusqu'à l'observation d'un caillot tout en notant le temps de coagulation pour les tubes de chaque dose.

1.1.12. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

1.1.12.1. Effets de la stabilisation des membranes plasmiques

L'effet de l'extrait hydroalcoolique des amandes amères des noix d'abricot (EXT) sur la stabilisation des membranes plasmiques a été déterminé avec des érythrocytes humains en suivant la méthode développée **par Shinde et al. (1989)** avec des légères modifications, nous avons utilisé les méthodes d'hémolyse érythrocytaire induite par une solution hypotonique et par la chaleur. Brièvement, 5 mL du sang humain ont été recueillis et transférés dans des tubes contenant de l'EDTA. Les tubes ont ensuite été centrifugés à 1430 g pendant 10 minutes, puis le surnageant a été retiré et les globules rouges ont été lavés trois fois avec une solution saline normale (NaCl 0,9%). Le volume de sang a été mesuré et reconstitué en une suspension de 40% en utilisant une solution tampon isotonique au pH de 7.4 (0.1 M).

Hémolyse induite par hypotonie

Pour induire l'hémolyse par hypotonie, quatre séries de tubes ont été préparées :

- **Série 1** : constituée de quatre tubes de 5 mL contenant 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ d'extrait (solubilisés dans une solution saline pour les deux premiers tubes et dans l'eau distillée pour les deux autres tubes).
- **Série 2** : constituée de quatre tubes de 5 mL contenant 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ d'extrait (solubilisés dans une solution saline pour les deux premiers tubes et dans l'eau distillée pour les deux autres tubes).
- **Série 3** : constituée de quatre tubes de 5 mL contenant 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de l'indométacine (solubilisés dans une solution saline isotonique pour les deux premiers tubes et deux autres contenant l'eau distillée).

- **Série 4** : constituée de quatre tubes de 5 mL (deux tubes contenant une solution saline isotonique et deux autres contenant l'eau distillée) comme contrôle négatif.

0.1mL de la suspension érythrocytaire a été ajoutée à chaque tube, les tubes ont été incubés pendant 1 heure à température ambiante. Ensuite, une centrifugation à 1430 g pendant 5 minutes a été effectuée. L'absorbance du surnageant a été mesurée à une longueur d'onde de 540 nm. Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Inhibition de l'hémolyse (\%)} = 1 - \frac{(\text{Abs2} - \text{Abs1})}{(\text{Abs3} - \text{Abs1})} \times 100$$

Abs1 : l'absorbance de l'échantillon testé dans une solution isotonique.

Abs2 : l'absorbance de l'échantillon testé dans une solution hypotonique.

Abs3 : l'absorbance de l'échantillon témoin en solution hypotonique.

A) Hémolyse induite par la chaleur

Pour induire l'hémolyse par la chaleur, nous avons préparé quatre séries de tubes :

- **Série 1** : constituée de quatre tubes de 5 mL contenant 200 µg / mL d'extrait préparés dans une solution saline isotonique.
- **Série 2** : constituée de quatre tubes de 5mL contenant 400 µg / mL d'extrait préparés dans une solution saline isotonique.
- **Série 3** : constituée de quatre tubes de 5 mL contenant 200 µg / mL de l'indométacine dans une solution saline isotonique.
- **Série 4** : constituée de quatre tubes de 5 mL contenant une solution saline isotonique.

Une suspension d'érythrocyte de 0.1 mL a été ajoutée à tous les tubes de chaque série. Une paire de chaque série a été incubée à 54 °C pendant 20 min. L'autre paire a été refroidie à -10°C pendant 20 min, puis les tubes centrifugés à 160 g pendant 5 min et les absorbances ont été mesurées à 540 nm.

Le pourcentage d'inhibition d'hémolyse a été calculé comme suit :

$$\text{Inhibition d'hémolyse (\%)} = 1 - \frac{[\text{Abs2} - \text{Abs1}]}{[\text{Abs3} - \text{Abs1}]} \times 100$$

Abs1 : Absorbance de l'échantillon d'essai non chauffé.

Abs2 : Absorbance de l'échantillon d'essai chauffé.

Abs3 : Absorbance de l'échantillon de contrôle.

1.1.12.2. Inhibition de la dénaturation de l'albumine

L'effet protecteur de l'EXT contre la dénaturation induite par la chaleur de BSA a été évalué in vitro selon la méthode de **Sakat et al. (2009)** mais en remplaçant l'albumine bovine par l'albumine d'œuf (**Chandra et al., 2012**). En utilisant le médicament anti-inflammatoire non stéroïdien Diclofénac de sodium qui a été utilisé comme référence pour comparer les résultats de l'extrait. Brièvement, 1 mL de différentes concentrations de l'extrait/médicament standard : Diclofénac sodique (400 et 600 µg/mL) a été mélangés avec un 1 mL de solution d'albumine d'œuf, puis ils ont été incubés à 27°C pendant 5 minutes. Après ces étapes, la solution réactionnelle a été soumise pendant 10 min à une température de 60°C dans un bain-marie, après refroidissement ; la turbidité a été mesurée à $\lambda = 660$ nm par spectrophotomètre, où le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine est calculé selon la formule suivante :

$$(\%) \text{Inhibition de la dénaturation} = 100 - \left[\frac{\text{Abs1}}{\text{Abs0}} \right] \times 100$$

Abs 0 : est l'absorbance de l'échantillon/étalon.

Abs 1 : est l'absorbance de la solution de contrôle.

1.1.13. L'activité antibactérienne

La sensibilité des souches bactériennes aux extraits de plantes a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion en milieu gélosé. Cette méthode consiste à imbiber des disques de papier Whatman n°1 d'un diamètre de 6 mm avec les extraits à tester, préalablement dilués dans de l'eau distillée stérile. Différentes concentrations de l'extrait ont été obtenues en réalisant une dilution en série de la solution mère (20 mg/mL). Des disques imbibés de céfotaxime ont été utilisés comme contrôle négatif, tandis que des disques imbibés d'oxacilline ont été utilisés comme contrôle positif. Ensuite, les disques imprégnés d'extrait ont été déposés à la surface d'une gélose Muller-Hinton préalablementensemencée avec une suspension microbienne. Trois souches bactériennes de référence ont été utilisées : *Escherichia coli* (ATCC25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) et *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures. L'apparition ou non d'une zone d'inhibition a été observée, et les diamètres de ces zones ont été mesurés conformément au protocole décrit par **Choi et al. (2006)**. les souches bactériennes utilisées dans cette étude ont été obtenues à

partir de prélèvements effectués au laboratoire de Microbiologie du Centre Hospitalier Universitaire de Batna (CHU).

1.1.14. Etude statistique

Les résultats obtenus ont été exprimés sous forme de moyenne \pm écart-type, en réalisant trois répétitions pour chaque paramètre expérimentale. Pour une meilleure visualisation des résultats, les données ont été représentées sous forme des graphes et histogrammes en utilisant le logiciel Microsoft Excel 2016. L'analyse statistique des données a été effectuée à l'aide du logiciel XLSTAT 2014.5.03, qui a permis de réaliser des tests statistiques appropriés pour évaluer la significativité des différences entre les groupes expérimentaux. La signification de différence entre le standards et l'EXT, en utilisant le test ANOVA one way suivie par le test tukey, et le test student où le résultat de comparaison exprimés comme suivant ;

ns $p > 0,05$ = la différence non significative, - (*) $0,05 > P > 0,01$ = la différence est significative, - (**) $0,01 > P > 0,001$ = la différence est hautement significative, - (***) $P < 0,001$ = la différence est très hautement significative

2. Résultats

2.1. Extraction

Les résultats obtenus montrent un rendement de **20.26 %** en EXT en fonction de la matière sèche.

2.1.1. Criblage phytochimique

Les tests phytochimiques élaborés ont révélé la présence de plusieurs groupes de métabolites secondaires, qui sont les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les stérols et les polyterpènes, des sucres réducteurs et les protéines avec quelques traces des alcaloïdes. Toutefois, on note l'absence des stéroïdes, des saponosides, des anthocyanes, des tyrosines, des quinones et lignines (**tableau 2**).

Tableau 2. Résultats de la caractérisation des groupes chimiques dans l'extrait hydroalcoolique des amandes amères des noix d'abricot *P. armeniaca L.*

Groupes chimiques	Test	Résultats
Polyphénols totaux	FeCl ₃	+++
Flavonoïdes	AlCl ₃	++
Tanins	FeCl ₃ (1%) / 10% NaOH test	+
Saponosides	Test de Mousse	-
Alcaloïdes	Test de Dragendroff's / test de Mayer's	±
Protéine	Test de Biuret	+
Les sucres réducteur	Test de Fehling's	++
Tyrosine	Test de Xanthoprotéines	-
Quinones	Test de KOH alcoolique	-
Lignines	Test de Furfuraldehydes	-
polyterpènes et stérols	Reaction de Liberman burchard	+
Anthocyanes	Ammonium hydroxide	-
Stéroïdes	stéroïdes	-

Absence : - ; abondante : +++ ; moyenne : ++ ; faible : + ; trace : ±

2.1.2. Dosage des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins

La teneur de l'extrait en polyphénols totaux a été réalisée en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique ($y = 0.0109x$, $R^2 = 0.997$) (**Annexe 02**). Cette teneur est

exprimée en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG}/\text{mg Ex}$). Tout le contenu phénolique dans l'extrait examiné est autour de $48.8 \mu\text{g EAG}/\text{mg}$ d'extrait.

Les résultats de dosage des flavonoïdes ont été calculés en utilisant la quercétine comme étalon ($y=0.0368$, $R^2=0.999$) (**Annexe 03**), Cette teneur en flavonoïdes est exprimée en $\mu\text{g EQ}/\text{mg}$ d'extrait. Les résultats de ce dosage montrent que la teneur en flavonoïdes de l'extrait de noix d'abricot amère est de $8.07 \mu\text{g EQ}/\text{mg}$ extrait, concernant les tanins en utilisant la catéchine comme étalon ($y=1.552$, $R^2=0.997$) (**Annexe 04**), la teneur d'extrait en tanins est exprimée en $\mu\text{g E catéchine}/\text{mg}$ extrait, où nos résultats montrent une teneur de $85.66 \mu\text{g E catéchine}/\text{mg}$ Extrait (**tableau 3**).

Tableau 3. La teneur en polyphénols et flavonoïdes et tanins dans l'extrait hydroalcoolique des amandes amères des noix d'abricot *P. armeniaca L.*

L'extrait	Teneur en Polyphénols ($\mu\text{g EGA}/\text{mg}$ extrait)	Teneur en Flavonoïdes ($\mu\text{g EQ}/\text{mg}$ extrait)	Teneur en Tannins ($\mu\text{g catéchine}/\text{mg}$ extrait)
	48.8 ± 0.02	8.07 ± 0.001	85.66 ± 0.04

2.1.3. Dosage des sucres totaux et des protéines

Les résultats de cette étude montrent que l'EXT présente une quantité modeste en sucres et protéines, où nous avons enregistré une teneur en sucre de $0.061 \pm 0.88 \text{ mg D-glucose}/\text{g}$ d'extrait (**Annexe 06**), et en teneur en protéine de $164.65 \pm 1.12 \text{ mg}/\text{g}$ d'extrait (**Tableau 4**).

Tableau 4. La teneur en sucre et protéines dans dans l'extrait hydroalcoolique des amandes amères des noix d'abricot *P. armeniaca L.*

L'extrait	Teneur en sucre (mg D-glucose/ g d'extrait)	Teneur en protéine (mg/g d'extrait)
	0.061 ± 0.88	164.65 ± 1.12

2.1.4. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

La FTIR a été utilisée pour identifier les groupes fonctionnels présents dans l'échantillon. Les résultats sont présentés dans **la figure (22)** et **le tableau (5)**, dans ce spectre :

1. Une bande d'intensité moyenne centrée à 3440 cm^{-1} a été attribuée aux vibrations OH des composés hydroxylés tels que le glucose, polyphénols, flavonoïdes,...
2. Des bandes correspondant aux vibrations CH du cycle aromatique sont observées dans le spectre de la région $2800\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ indiquant qu'il existe des composés aromatiques tels que des peptides aromatiques et des cycles de sucre pyranosidiques qui présentent de fortes bandes dans ces régions d'empreintes digitales. Les bandes aliphatiques =C-H s'étirent à 3008 cm^{-1} , correspondant à la graisse.
3. La bande à 1748 cm^{-1} est attribuée à la bande d'étirement carbonyle des esters de triacylglycérides (C=O) par exemple
4. La bande à 2116 cm^{-1} (étirement $\text{C}\equiv\text{N}$ du groupement nitrile), cette bande est spécifique du potentiel cyanogénique (**Micklander et al., 2002**).
5. Des bandes moins intenses et moins spécifiques et distinctes du cycle aromatique sont également observées dans la région de 1238 à 918 cm^{-1} où les vibrations de flexion C-H hors du plan du cycle aromatique produisent des bandes.

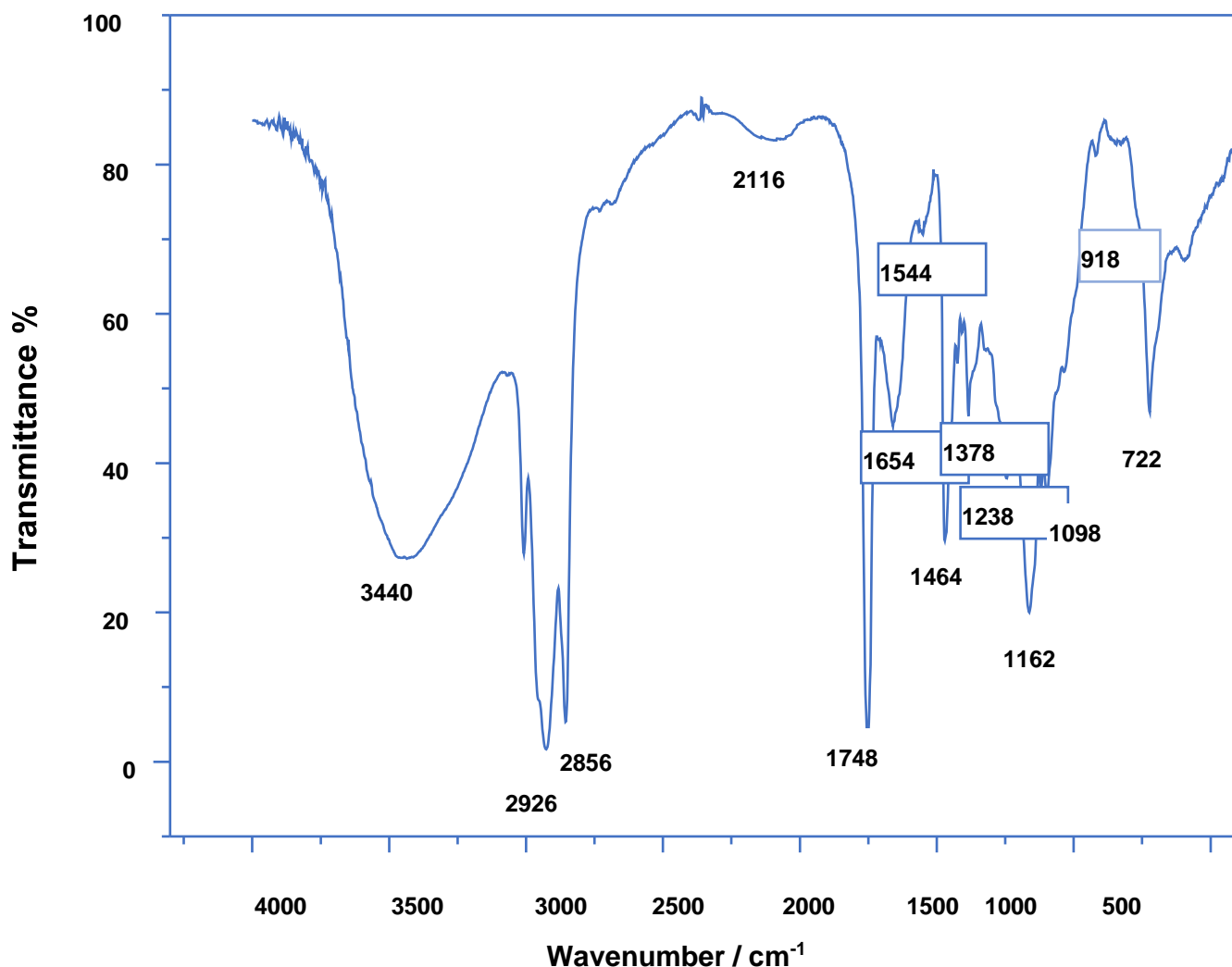


Figure 22. Spectre FTIR de l'extrait hydroalcoolique des amandes amères des noix d'abricot *Prunus armeniaca* L

Tableau 5. Fréquences FTIR et leurs affectations maximales pour les spectres de l'extrait des amandes amères des noix d'abricot *Prunus armeniaca* L.

Valeurs de Pics		Origine de pics		
1	3440	O-H	Elongation	Groupe OH "polymérique" normal (glucose, groupement alcool et composés hydroxylés)
2	3008	=C-H	Elongation	Cycle aromatique
3	2926	C-H (CH ₂)	Aromatique Symétrique Elongation	Groupe alcane/alkyle aliphatique saturé fréquences (acides gras dans les triacylglycériles)
4	2856	C-H (CH ₂)	Aliphatique Asymétrique Elongation	

5	2116	C≡N		Groupe nitrile (Glycosides cyanogéniques)
6	1748	C=O	Elongation	esters de triglycérides
7	1654	C=C	Elongation	Alcalin
8	1544	C-H	Angular	Composés nitrés aromatiques (composés hétéro-oxy simples)
9	1464	C-H (CH ₂)	Symmetrical angular deformation	Phénol (composés hydroxylés)
10	1378	C-H (CH ₃)	Angular deformation	Carboxylates (Sels d'acide carboxylique); Fréquences des groupes de composés carbonylés
11	1238	C-O	Elongation	Éthers aromatiques
12	1168	C-O	Elongation	esters de triglycérides
13	1098			Amide primaire (étirement CN)
14	918			Phosphates aliphatiques (étirement P-O-C) regroupés sous de simples composés hétéro-oxy
15	722	-(CH ₂)-	Angular deformation	Aromatic C-H

2.1.5. Identification des différents composés de l'extrait hydroalcoolique par HPLC-DAD

L'identification et la quantification des substances présentes dans les extraits sont réalisées en comparant les temps de rétention des pics des étalons de référence avec ceux obtenus lors de l'analyse de l'extrait, Les profils chromatographiques de l'EXT sont représentés par **la figure (23)**, tandis que les résultats des analyses qualitatives sont donnés dans **le tableau (6)**. Les résultats montrent que l'extrait contient : l'acide caféique, l'acide gallique, l'acide vanillique, l'acide tannique, catéchine, quercétine, genistein, gossypine, naringine, rutine, sylimarine, amygdaline, diméthoxyflavone. Notons qu'au cours de nos analyses tous les composés n'ont pas été identifiés est à cause de manque des étalons adéquats.

Tableau 6. Pics d'HPLC-DAD et leur temps de rétention pour l'extrait des amandes amères des noix d'abricot *P. armeniaca* L. et les différents standards

pic	Composés	Temps de Rétention des étalons	Temps de Rétention des composés de l'extrait
1	Acide tannique	2.82	2.89
2	Acide gallique	3.77	3.72
3	Acide caféique	11.07	11.02
4	Acide vanillique	1.80	1.85
5	Catéchine	9.19	9.23
6	Genistein	3.52	3.49
7	Gossypine	2.56	2.62
8	Naringin	15.25	15.27
9	Quercétine	21.80	21.84
10	Rutine	13.57	13.63
11	Sylimarine	18.60	18.66
12	Amygdaline	10.50	10.43
13	Diméthoxyflavone	14.29	14.32

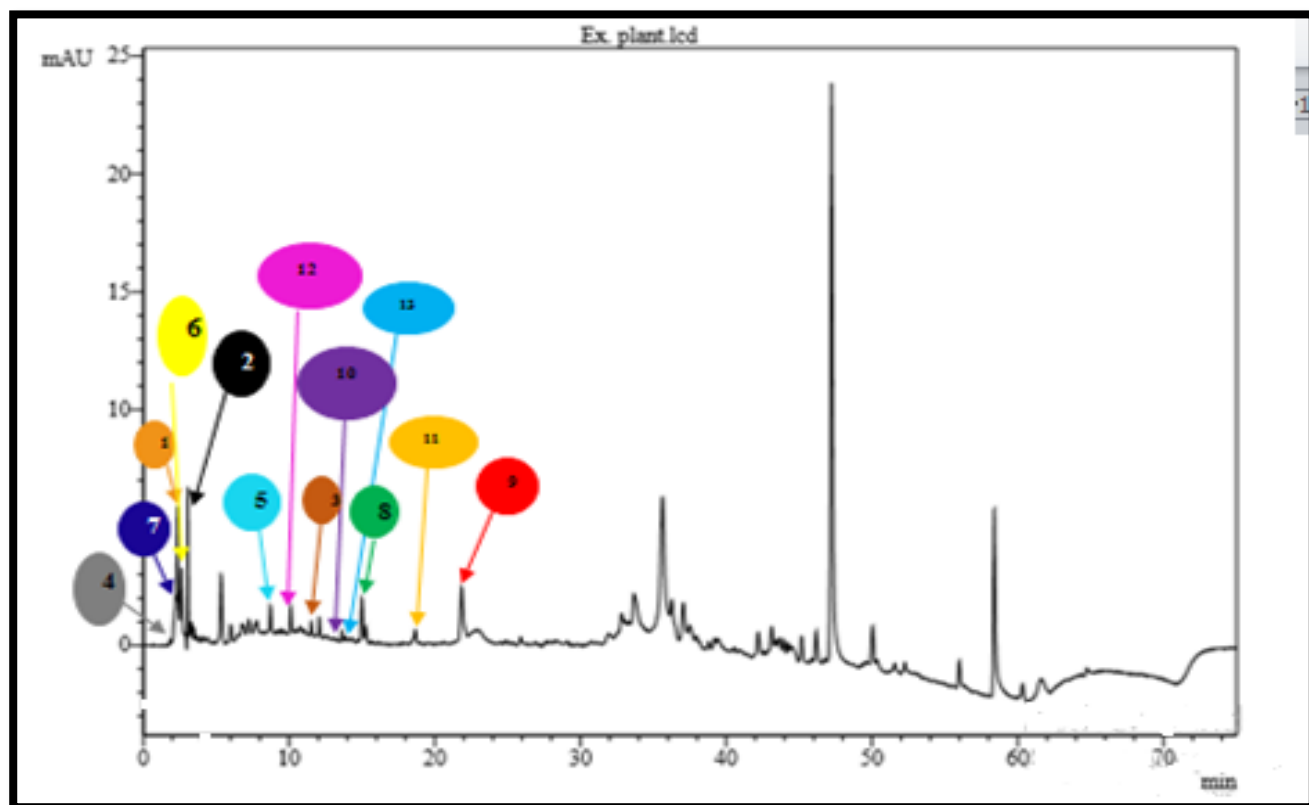


Figure 23. Pics d'HPLC-DAD pour l'extrait hydroalcoolique des amandes amères des noix d'abricot *P. armeniaca* L.

2.1.6. Activité antioxydante

Quatre méthodes ont été utilisées dans cette étude pour évaluer l'activité antioxydante de l'extrait. Ces méthodes comprennent le test de piégeage du radical libre DPPH, le test de réduction du fer, le test de blanchiment du β -carotène et le test au phosphomolybdate (capacité antioxydante totale).

1. Test au DPPH

Les valeurs d'IC₅₀ correspondent à la concentration d'antioxydants (l'EXT, acide ascorbique), qui indique la concentration nécessaire pour neutraliser 50% du radical libre dans le milieu. Une valeur d'IC₅₀ plus basse indique une activité antiradicalaire plus élevée pour un composé donné.

Le potentiel antiradicalaire de l'extrait testé a été inférieur à celui de l'acide ascorbique (**figure 24**) dont l'IC₅₀ est de l'ordre de 39.53 ± 1.19 $\mu\text{g/mL}$, tandis que l'IC₅₀ de l'EXT a été estimé à 169.90 ± 4.40 $\mu\text{g/mL}$ qui est plus élevée en comparaison avec celle de l'acide ascorbique (**figure 25**).

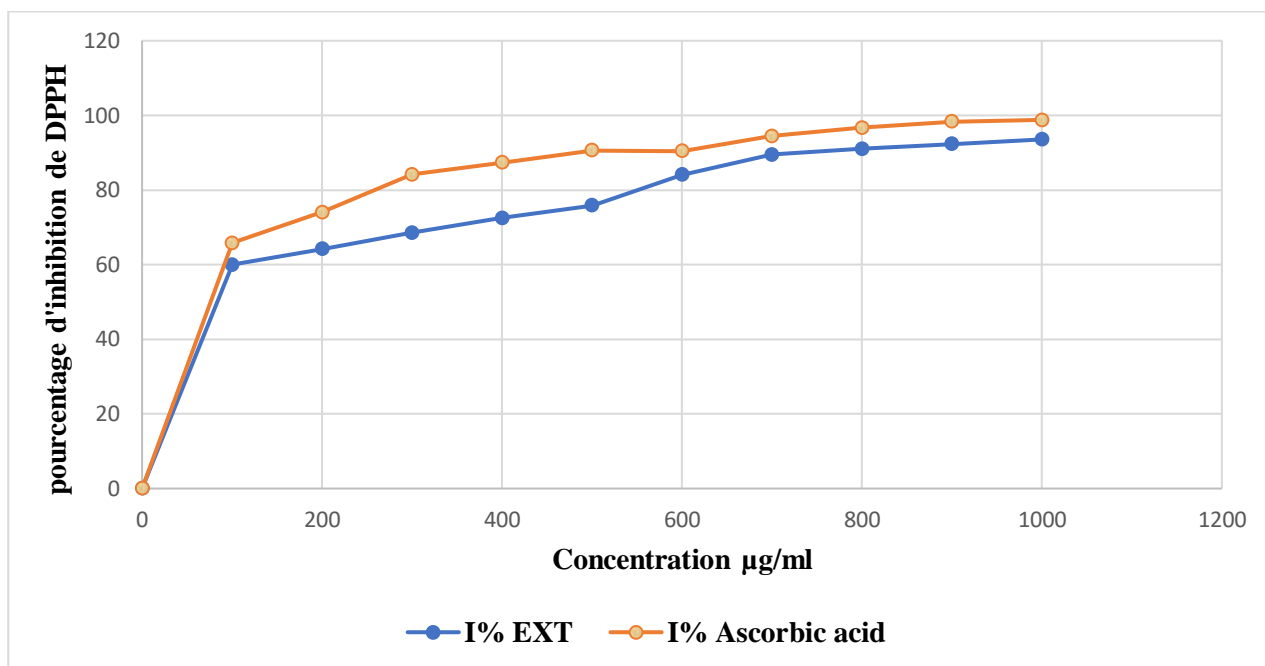


Figure 24. Activité antiradicalaire de l'extrait hydroalcoolique des amandes amères des noix d'abricot *P. armeniaca* L. et de l'acide ascorbique. Les valeurs sont les moyennes de trois mesures.

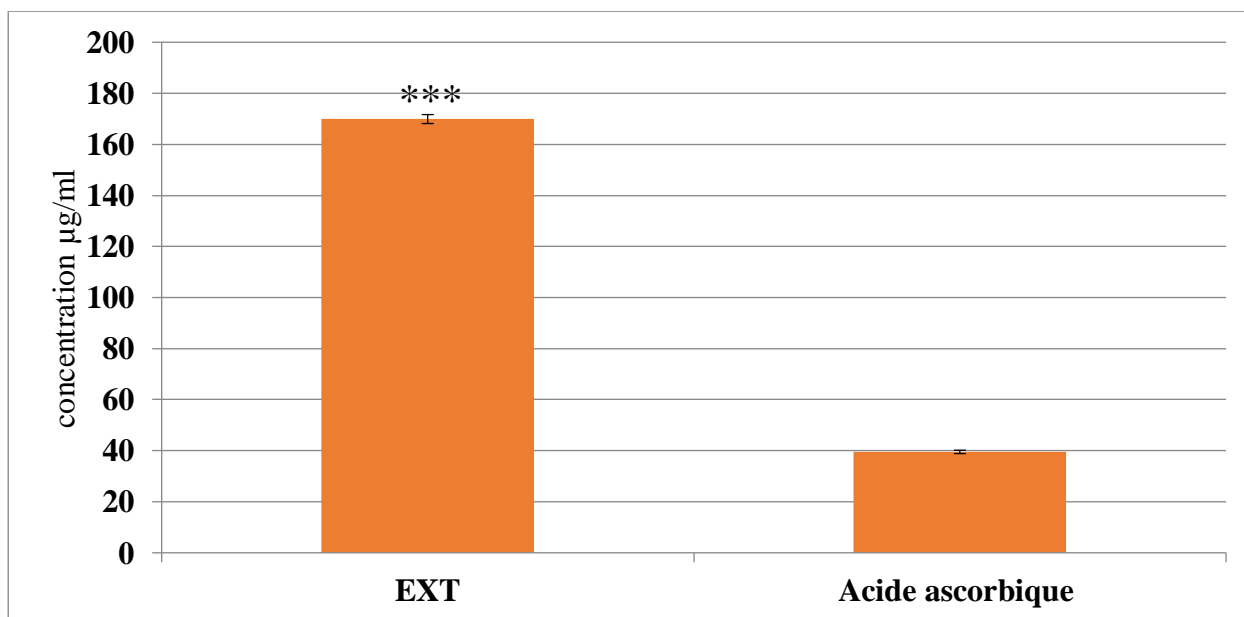


Figure 25. Variation des IC₅₀ de l'EXT, ***P < 0.001 le résultat est très hautement significative en comparaisons avec le standard chimique acide ascorbique par le test de student.

2.1.6.1. Test de blanchiment du β -carotène

La méthode de blanchissement du β -carotène a été utilisée pour l'évaluation de pouvoir anti-peroxydation lipidique de l'EXT. La cinétique du blanchissement du β -carotène, en présence de l'EXT et de la vitamine E est représentée dans **la figure (26)**. La dimiution de l'absorbance

dans le temps indique la capacité de l'EXT à ralentir la vitesse de l'oxydation des lipides, ce qui représente dans les courbes de cinétique de décoloration du β -carotène obtenues. Selon les résultats l'EXT a présenté une activité inhibitrice de l'oxydation du β -carotène avec un taux de **67.22%**, en comparaison avec la vitamine E qui montre un pourcentage d'inhibition égale 100%.

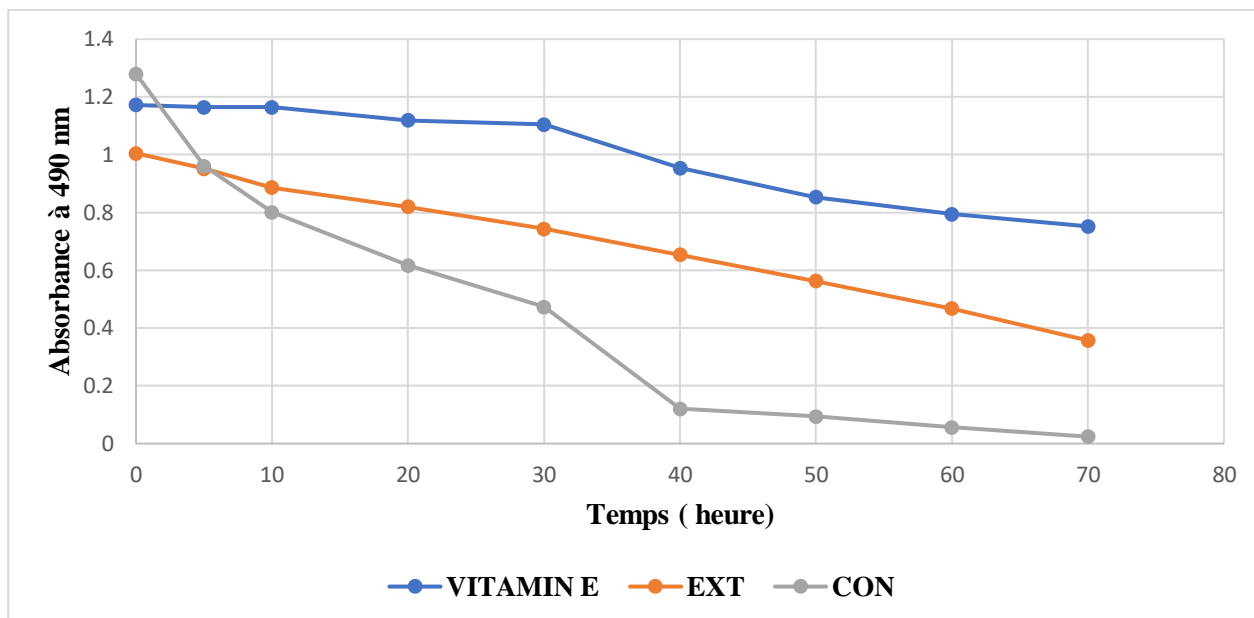


Figure 26. Cinétique de blanchiment du β -carotène à 490 nm en absence et en présence de l'EXT et de la vitamine E. Les valeurs sont les moyennes de trois mesures.

2.1.6.3. PR

Les résultats de l'activité réductrice de l'EXT et de l'acide ascorbique sont présentés dans la **figure (27)**. Les antioxydants réducteurs présents dans l'EXT et l'acide ascorbique induisent la transformation de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}) dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fournissant des électrons. L'EXT a montré une modeste activité réductrice et nettement inférieure à l'acide ascorbique, où la concentration effectrices (EC_{50}) de cette extrait est significativement élevée par rapport à celle de l'acide ascorbique (EC_{50} extrait = **325.51 ± 15.68** $\mu\text{g}/\text{mL}$, EC_{50} acide ascorbique = **188.59 ± 4.68** $\mu\text{g}/\text{mL}$) (**figure 28**)

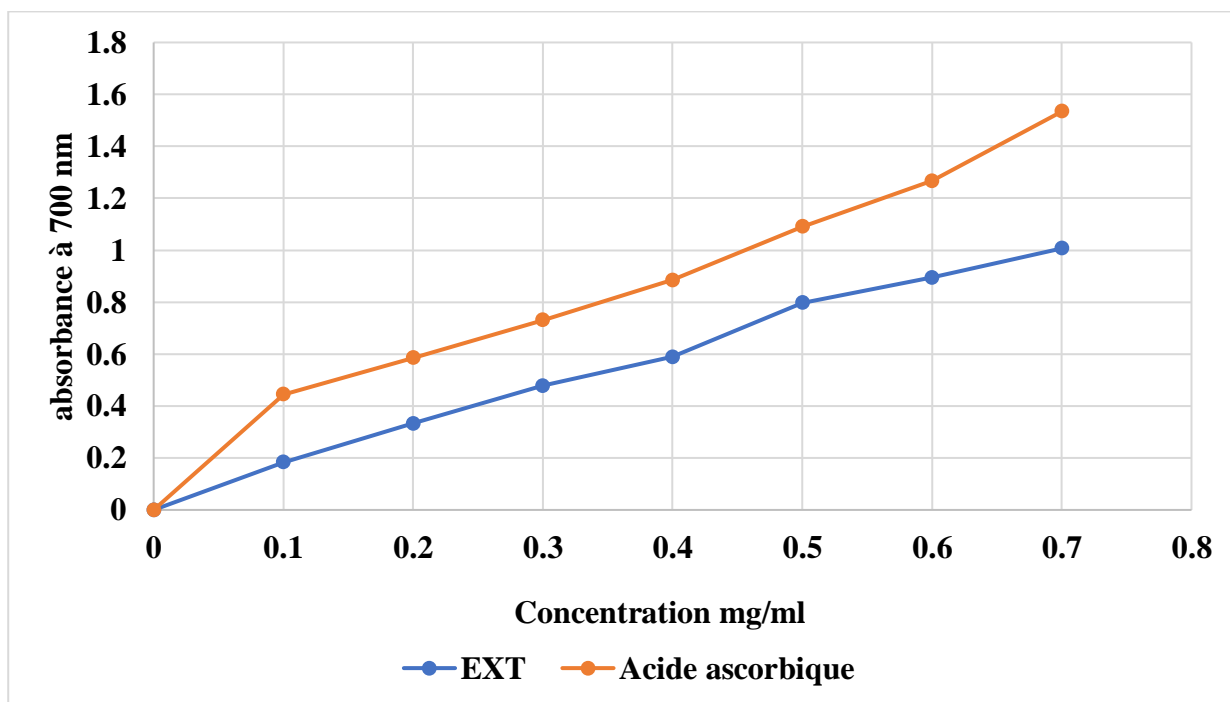


Figure 27. Pouvoir réducteur de l'EXT et de la vitamine C. Les valeurs sont les moyennes de trois mesures.

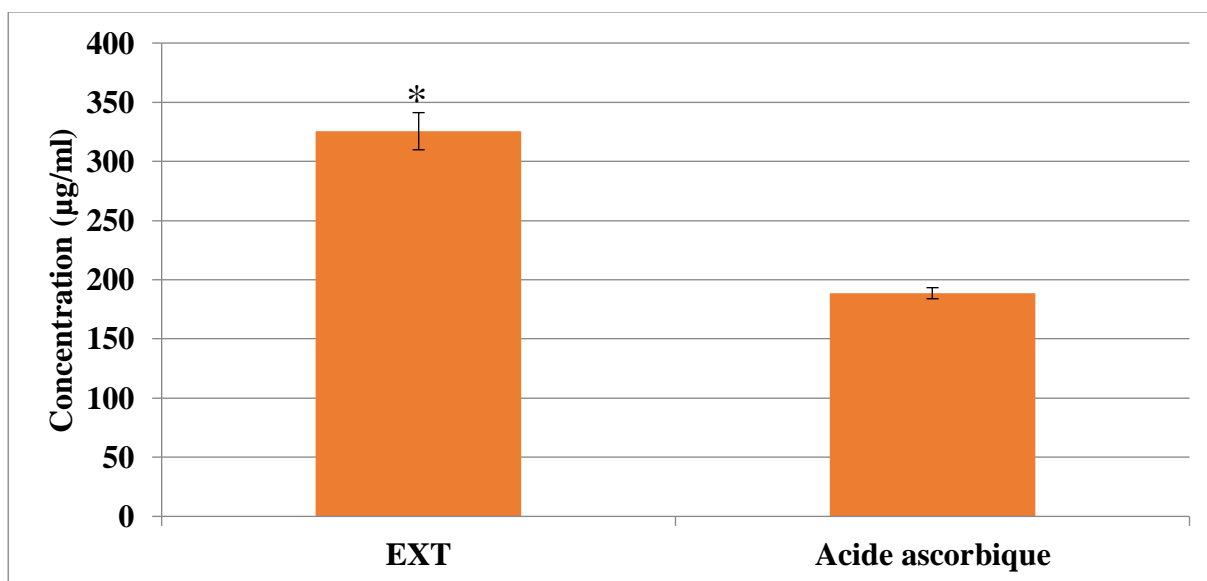


Figure 28. Concentrations effectrices (EC50) de l'extrait hydroalcoolique et de l'acide ascorbique. *P < 0.05 le résultat est significative Comparaisons avec le standard chimique acide ascorbique par un test de student.

2.1.6.4. Test au phosphomolybdate (capacité antioxydante totale)

L'activité du phosphomolybdate évalue la capacité antioxydante des composés hydrosoluble et liposoluble, cette activité augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. Les

résultats de cette étude ont été exprimés en μg équivalent acide ascorbique par mg d'extrait (Shailaja, 2019), notre l'EXT montre une activité antioxydante totale de $58.55 \pm 0.01 \mu\text{g}$ Vitamine C/mg d'extrait (figure 29). Concernant la courbe de vitamine C ($y=0.8337+0.0988x$; $R^2=0.987$) (Annexe08)

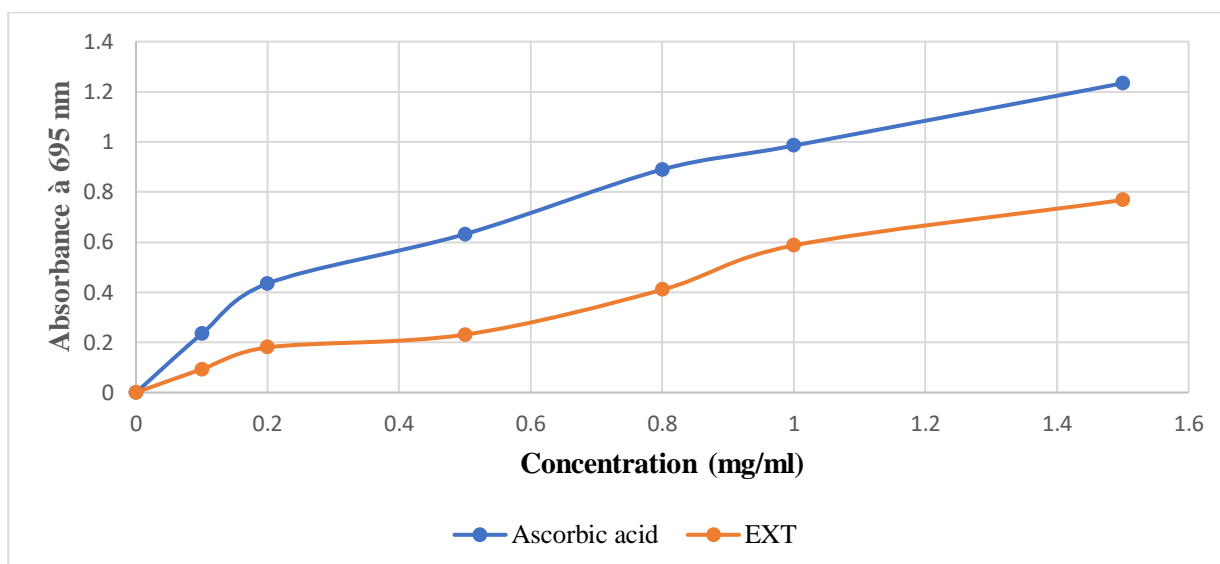


Figure 29. Activité antioxydante totale de l'EXT et de la vitamine E en utilisant le test de phosphomolybdate. Les valeurs sont des moyennes de trois mesures.

2.1.7. L'activité hémostatique

La coagulation est un processus aboutissant à la formation de caillots sanguins, elle repose sur des protéines de coagulation, ces dernières réagissent dans une cascade complexe qui forme des fibres de fibrine insoluble (Davie, 1986). La figure (30) présente les résultats de l'activité hémostatique in vitro de l'EXT.

Les résultats de cette activité hémostatique montrent une augmentation du temps de coagulation du plasma en fonction de la concentration de l'extrait ($29.94 \pm 0.63\text{s}$, $37.06 \pm 0.80\text{s}$, $49.13 \pm 0.72\text{s}$ et $67.84 \pm 0.99\text{s}$) pour les concentrations $10\mu\text{L}$, $50\mu\text{L}$, $100\mu\text{L}$ et $200\mu\text{L}$ respectivement, par rapport au témoin ($10.15 \pm 0.08\text{s}$).

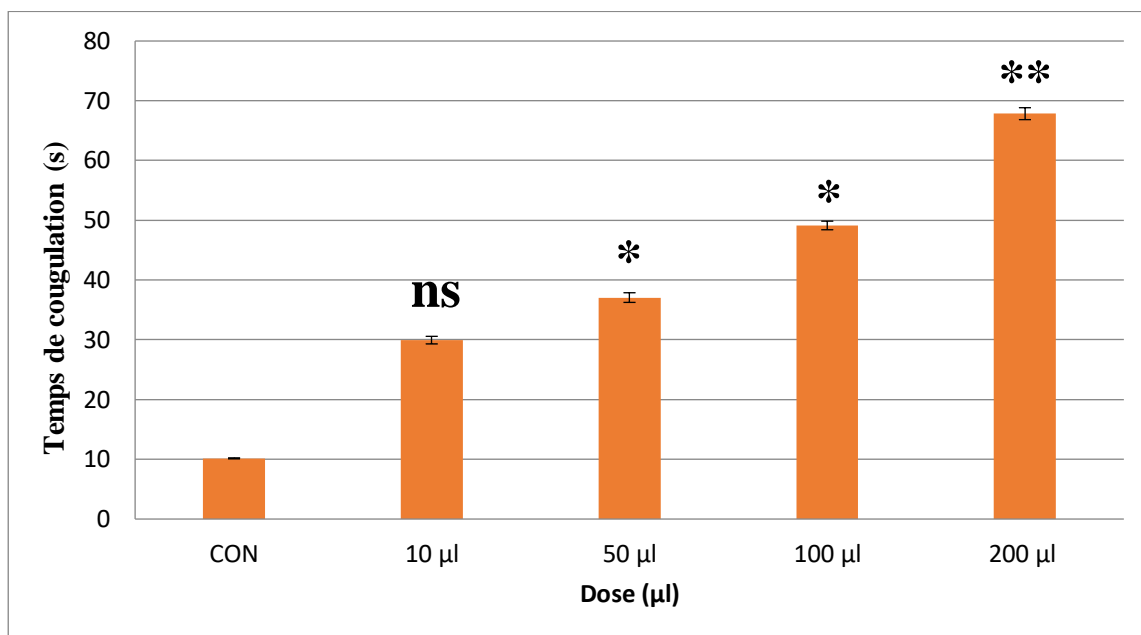


Figure 29. L'augmentation du temps de coagulation du plasma avec la croissance des doses de l'EXT. Les valeurs sont des moyennes \pm SD, la valeur p a été détectée par rapport au contrôle. La différence est significative (*) $0,05 > p > 0,01$; ** $p \leq 0,01$: est hautement significatif. (ns) la différence est non significative.

2.1.8. L'activité anti-inflammatoire

2.1.8.1. Effets sur la stabilisation des membranes plasmiques

Les résultats de la stabilisation de la membrane des érythrocytes testée par la chaleur et hypotonie en présence de l'EXT, comparés à ceux obtenus avec l'indométacine sont présentés dans les figures (31, 32).

Dans cette étude, nous avons trouvé que l'EXT pourrait avoir également la même activité inhibitrice d'hémolyse des membranes plasmique érythrocytaires contre la chaleur avec un effet de 78.80 ± 0.23 % pour l'extrait à 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ et 84.70 ± 2.40 % pour l'extrait à 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ et inhibe aussi l'hémolyse induite par l'hypotonie avec un effet de 63.40 ± 1.69 % pour l'extrait à 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ et 84.40 ± 2.26 % pour l'extrait à 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Par contre l'indométacine à 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ a inhibé l'hémolyse induite par la chaleur avec un effet de 74.99 ± 0.02 % et celle provoquée par l'hypotonie avec un effet de 55.75 ± 0.41 %.

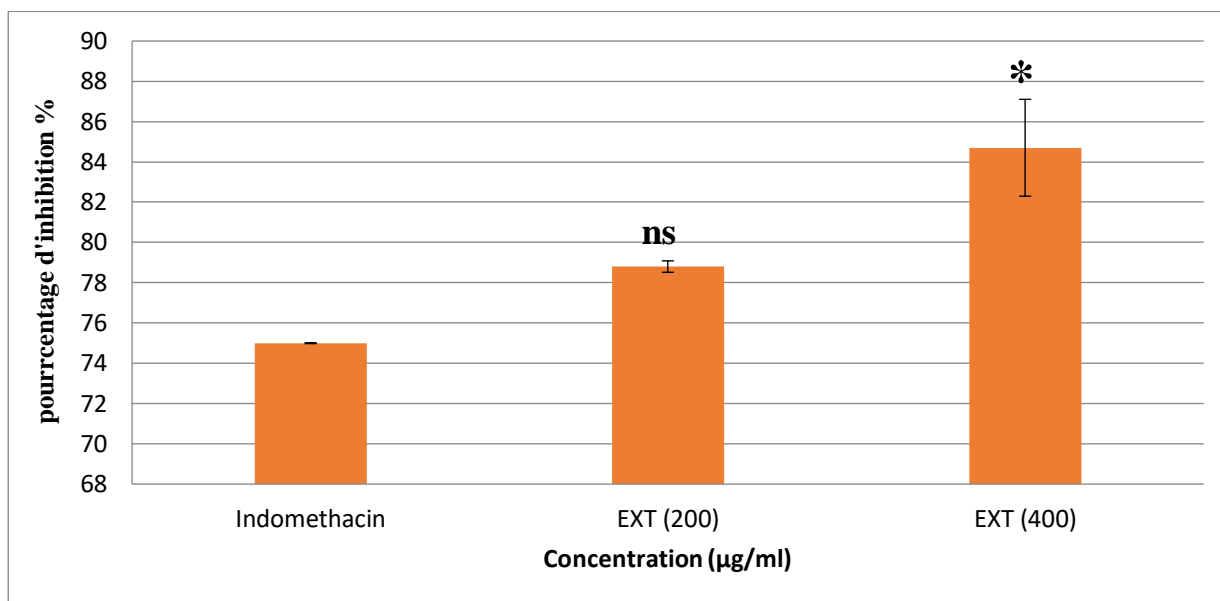


Figure 30. Activité inhibitrice d'hémolyse induite par la chaleur de l'EXT. Les valeurs sont des moyennes \pm SD, la valeur p a été détectée par rapport au médicament de référence. La différence est significative (*) $0,05 > p > 0,01$; (ns) la différence est non significative.

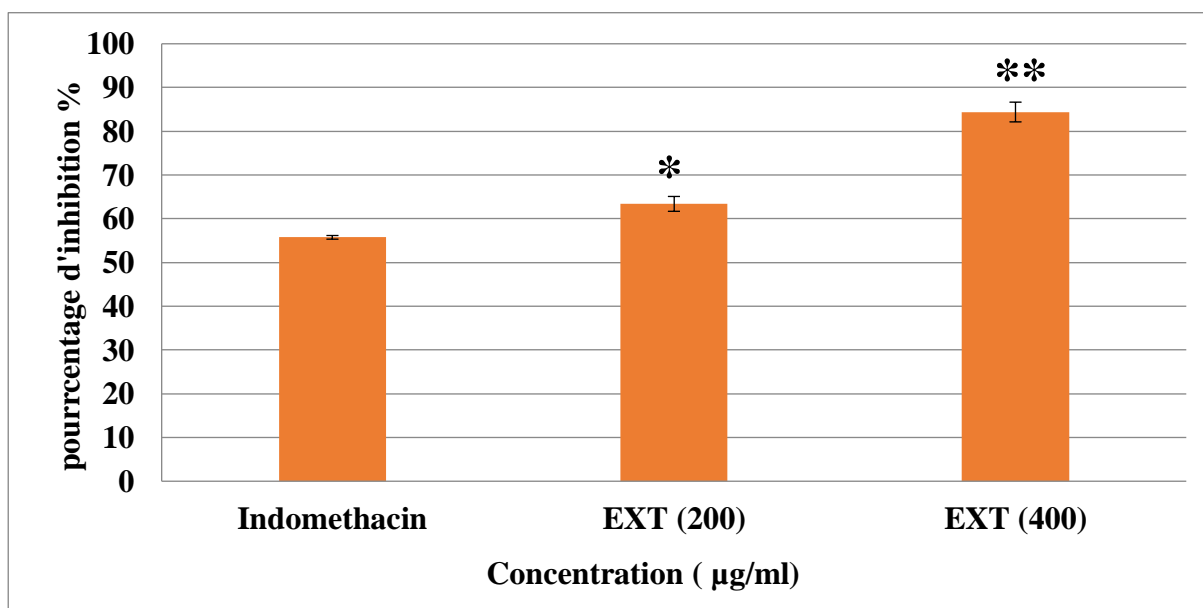


Figure 31. Activité inhibitrice d'hémolyse induite par l'hypotonie de l'EXT. Les valeurs sont des moyennes \pm SD, la valeur p a été détectée par rapport au médicament de référence. La différence est significative (*) $0,05 > p > 0,01$; ** $p \leq 0,01$: est hautement significatif.

2.1.8.2. Inhibition de la dénaturation de l'albumine

L'étude de l'effet de l'EXT sur la dénaturation de l'albumine en comparaison avec un control positif qui est le Diclofénac de sodium. L'EXTa révéla une inhibition maximale de 76.03 ± 1.20

% observée à 600 µg/mL, tandis que le Diclofénac a montré un pourcentage de $86.94 \pm 0.93\%$ pour la même concentration, et $59.70 \pm 2.59\%$ et $74.97 \pm 0.089\%$ pour l'EXT et le Diclofénac respectivement pour une concentration de 400µg/mL (figure 33).

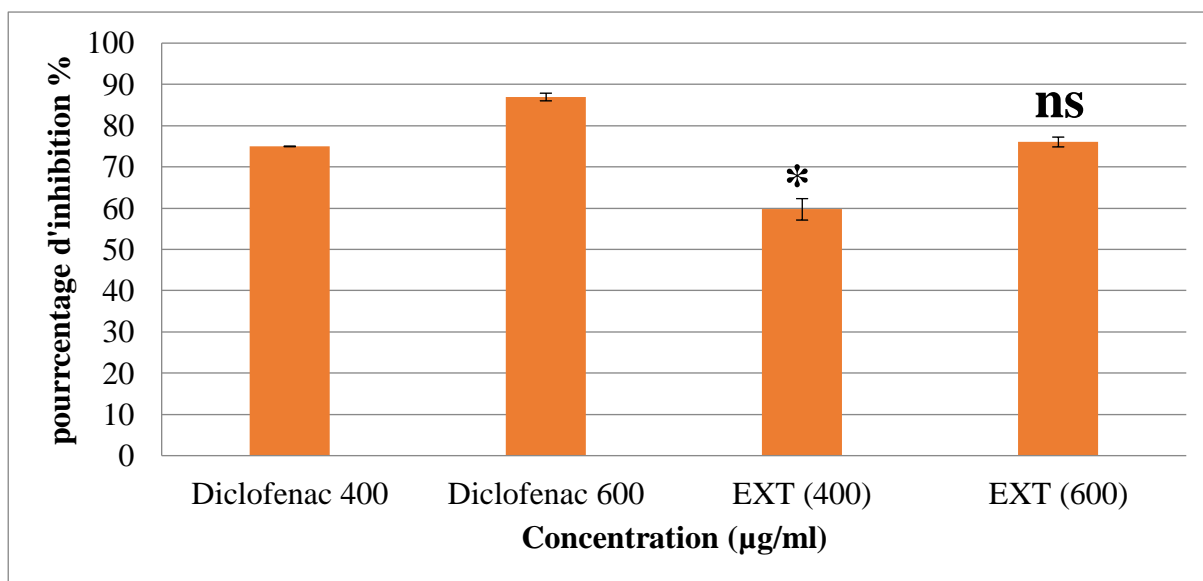


Figure 32. Potentiel d'inhibition de la dénaturation des protéines de l'EXT. Les valeurs sont des moyennes \pm SD, la valeur p a été détectée par rapport au médicament de référence. La différence est significative (*) $0,05 > p > 0,01$; la différence n'est pas significative (ns) $p > 0,05$

2.1.9. Activité antibactérienne

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'EXT sont présentés dans le **tableau (7)**. Les résultats obtenus ne montrent aucune zone d'inhibition autour les disques utilisés.

Tableau 7. Activité antibactérienne de l'EXT.

Souche bactérienne	L'extrait hydroalcoolique
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 1117	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-

3. Discussion

3.1. Criblage phytochimique

Les essais phytochimiques effectués sur l'EXT ont révélé la présence de composés phénoliques, des flavonoïdes, des tanins, des stérols et/ou les terpénoïdes, des sucres réducteurs et les protéines avec quelques traces des alcaloïdes. Par ailleurs, il y a eu absence des stéroïdes,

des saponosides, des anthocyanes, des tyrosines, des quinones et lignines. Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Korriem (2021)** et de **Juhaimi et al. (2018)** qui montrent la richesse des amandes amères des noix d'abricot en différents composés naturels.

3.2. Dosage des polyphénols, flavonoïdes et tanins

La teneur des polyphénols et flavonoïdes dans l'EXT varie respectivement de et 48.8 μg EAG/mg d'extrait et 8.07 μg EQ/mg d'extrait. La concentration de ces deux métabolites secondaires dans les extraits des plantes, très souvent dépend de plusieurs facteurs tels que l'origine de la plante, la saison de récolte, la partie utilisée et le solvant d'extraction (**Hadjadj, 2017**). Les études récentes de **Horozić et al., (2020)** ont montré un taux de 2.84 mg EAG/g d'extrait pour les polyphénols et 0.484 mg EQ/g d'extrait pour les flavonoïdes dans un extrait aqueux des amandes amères des noix d'abricot *P. armeniaca* L. Alors que les études menées en même moment par **Chen et ses collaborateurs en 2020** ont enregistré 209.4 ± 0.91 à 10.60 ± 0.20 mg EAG/100 g matière sèche, et 59.41 ± 0.54 mg EAG/100 g matière sèche respectivement pour les polyphénols et les flavonoïdes dans les différents extraits des amandes amères des noix d'abricot *P. armeniaca* L. de Pakistan. Concernant les tanins, nous avons enregistré une concentration de 85.66 μg E catéchine/ mg d'extrait, cette teneur est plus importante par rapport à d'autres résultats obtenus par les travaux de **Cheuib et al. (2018)** qui ont montré un teneur des tanins égale 3.6 mg/L. Ces résultats suggèrent la présence des tanins en quantité considérable dans les amandes amères des noix d'abricot *P. armeniaca* L.

3.3. Dosage des sucres totaux et des protéines

Les résultats de cette présente étude montrent une quantité de sucres de 0.061 ± 0.88 mg D-glucose/ g d'extrait, des résultats similaires ont été enregistrés également par **Pala et al. (1996)** montrant une quantité de sucre de 4.10–7.76 %. La quantification des protéines totales dans l'extrait a donné une teneur de 164.65 ± 1.12 mg/g d'extrait. Cette teneur est sous l'influence de plusieurs facteurs tels que le climat, le sol, l'altitude,... En effet, le dosage de protéines des différents extraits obtenus à partir des différentes amandes amères des noix d'abricot provenant des différentes régions en Turquie, a donné un interval très variable de concentrations protéiques allant de 14.1% à 45.35 % (**Alpaslan and Hayta, 2006**).

3.4. Spectres FTIR de l'extrait hydroalcoolique des amandes amère d'abricot *Prunus armeniaca* L.

Le spectromètre FTIR montre qu'un large pic d'absorption à environ 3440 cm^{-1} a été attribué à la présence d'un étirement -OH lié à l'hydrogène. Des bandes intenses avec des absorbances à

2924 et 2853 cm^{-1} sont attribuées, respectivement, aux vibrations d'étirement symétriques et asymétriques des groupes (CH_2) d'acides gras dans les triacylglycérides. La bande 3008 cm^{-1} est due à l'étirement aliphatique $=\text{C}-\text{H}$, correspondant par exemple à la graisse. La bande à 1748 cm^{-1} pour la bande d'étirement ($\text{C}=\text{O}$) est également attribuée aux esters de triacylglycéride carbonyle et également aux résidus des acides aminés incorporés dans la structure protéique. La bande à 2116 cm^{-1} (étirement $\text{C}\equiv\text{N}$ du groupement nitrile), est une bande spécifique du potentiel cyanogénique. Des bandes moins intenses et moins spécifiques du cycle aromatique sont également observées dans la région de 1238 à 918 cm^{-1} où les vibrations de flexion $\text{C}-\text{H}$ hors du plan de cycle aromatique produisent des bandes appartenant à cet interval de fréquence. Ces résultats ont révélé la présence de plusieurs groupes fonctionnels bioactifs tels que OH, NH, CHO, COOH et -COOR liés aux différents groupes phytochimiques signalés dans le test de dépistage qualitatif : polyphénol, flavonoïdes, tanins, polyterpènes et stérols. En plus de ces groupements fonctionnels, l'analyse FTIR confirme la présence du groupement cyanogène (étirement $\text{C}\equiv\text{N}$ du groupement nitrile), très probablement lié à la présence du diglycosidique cyanogène, en l'occurrence l'amygdaline. Plusieurs travaux ont conclu également, en utilisant l'analyse par IR, la présence de ces étirements dans les mêmes régions de fréquence, montrant la présence des groupements fonctionnels sus-cités dans les différents composés phytochimiques contenus dans les extraits des amandes amères des noix d'abricot (Aljoumaa et al., 2017 ; Thakur et al., 2019 ; Fadhil et al., 2020).

3.5. Identification des différents composés de l'extrait hydroalcoolique des amandes amère d'abricot *Prunus armeniaca* L par HPLC-DAD

L'analyse des différents métabolites dans l'EXT par HPLC-DAD a pu identifier 13 composés qui sont l'acide gallique, l'acide tannique, l'acide caféique, l'acide vanillique, catéchine, genistein, gossypine, naringin, quercétine, rutine, sylimarine, amygdaline et diméthoxyflavone. Des résultats similaires ont été enregistrés par Qin et al. (2019) ayant montré la présence de l'acide gallique, l'acide caféique, l'acide gentisique, l'acide férulique, l'acide m-coumarique, acide homovanillique, acide salicylique, des flavonoïdes (flavones), des anthocyanes (cyanidin3-4 acetylutinoside) dans un extrait méthanolique des amandes amère d'abricot. Il faut rappeler dans ce contexte que le nombre de molécules identifiées dans cette présente étude n'est pas exhaustif, étant donné qu'il y a eu un manque de standards indispensables pour élargir l'identification des autres molécules apparues dans les spectres d'analyse.

3.6. Activité antioxydante

Il faut noter d'abord que l'activité antiradicalaire évaluée par le test au DPPH varie en fonction des conditions géographiques et climatiques de la plante, de stockage et la méthode utilisée dans l'extraction. En effet, dans cette présente étude l'extrait a montré une valeur d'IC₅₀ de l'ordre 169.90 ± 4.39 µg/mL, alors que le standard, acide ascorbique, a révélé une IC₅₀ de l'ordre de 39.53 ± 1.19 µg/mL. Ces résultats affichent une différence nette entre l'EXT et le standard, cependant cet écart ne devrait pas être une raison pour sous-estimer le potentiel antiradicalaire de l'extrait qui est, bien entendu, n'est pas pure et donc ne reflète pas réellement son pouvoir antiradicalaire. Ces résultats obtenus peuvent être attribués à la présence de métabolites actifs secondaires tels que les polyphénols et les flavonoïdes, qui sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes. Les travaux de **Amiran et al. (2014)** portés sur un extrait à l'hexane des amandes amères des noix d'abricot *P. armeniaca* L, ont conclu des résultats affichant une IC₅₀ de l'ordre de 165 µg/ml. Il faut rappeler que les travaux de recherche similaires sont très rares dans la littérature consultée.

Les résultats du test de blanchiment du β-carotène ont indiqué que l' montre une activité de (AAR = 67.22 %), Les résultats indiquent clairement que l'extrait étudié présente une activité inhibitrice de l'oxydation conjointe de l'acide linoléique et du β-carotène par rapport au témoin négatif, qui représente 100% de la peroxydation. Les travaux rapportés par la littérature scientifique sont limités à ceux de **Durmaz and Alpaslan (2007)** qui ont montré l'activité antioxydante des mandes amères des noix d'abricot *P. armeniaca* L en utilisant différents tests tels que le piégeage du radical libre DPPH, la réduction du fer, l'activité anti-péroxydation des lipides (le test de blanchiment du β-carotène). L'évaluation du potentiel antioxydant de l'extrait par la méthode de réduction de fer exprimée en concentration effectrices (EC₅₀), cette dernière est significativement élevée par rapport à celle de l'acide ascorbique (EC₅₀ Extrait= 325.51 ± 15.68 µg /mL, EC₅₀ acide ascorbique = 188.59 ± 4.68 µg/mL). Cette activité antioxydante de l'extrait pourrait être expliquée par un effet synergique de plusieurs composés antioxydants tels que les composés phénoliques. Ce type de test sur les extraits des amandes amères des noix d'abricot n'est pas rapporté par la littérature consultée, cependant les travaux menés par **Qin et al. (2019)** ont conclu une concentration réductrice de l'ordre de 3.05 ± 0.78 mg/mL après analyse d'un extrait des amandes d'une autre espèce à savoir *Armeniaca Sibirica* L. Par ailleurs, l'évaluation de l'activité antioxydante totale de l'extrait hydroalcoolique des amandes amères d'abricot a montré que l'absorbance de l'extrait augmente avec l'augmentation de la

concentration, donc concentration dépendante. Ces résultats sont explicables par la présence des phytoconstituants antioxydants comme les polyphénols, flavonoïdes, ... (**Kaur et al., 2008**)

3.7. Activité anti-inflammatoire

L'évaluation de l'effet de l'EXT in vitro sur la stabilisation de la membrane plasmique a montré un effet inhibiteur significatif ($p \leq 0,05$) sur l'hémolyse des globules rouges induite par la chaleur ou l'hypotonie pour les deux concentrations utilisées 200 $\mu\text{g/mL}$ et 400 $\mu\text{g/mL}$. Plusieurs travaux ont rapporté l'effet de certaines molécules comme les polyphénols et les flavonoïdes sur l'inhibition de certains indicateurs de l'inflammation tels que la cyclooxygénase (COX1 et COX 2) et de la lipoxygénase (LOX), TNF- α et du NF-KB, MAP Kinase (**Xagorari et al., 2001 ; Hwang et al., 2009**). Selon les travaux de **Hosny et al. (2020)** qui ont montré que l'amygdaline possède une activité anti-inflammatoire en supprimant la voie NF-KB et diminuant la production de TNF- α . Donc l'activité anti-inflammatoire de l'extrait étudié pourrait être justifiée par la présence de la même molécule de l'amygdaline renfermée dans cet extrait dont la présence a été prouvée par l'analyse HPLC-DAD.

La présente étude a montré également que l'EXT a une activité anti-dénaturation de l'albumine induite par la chaleur, qui est une cause d'inflammation bien démontrée (**Medina, 2011**). Cette activité anti-dénaturation est due à la présence de deux sites de liaison à l'albumine, la thréonine riche en tyrosine aromatique et aliphatique et les régions de résidu lysine (**Yan et al., 2013**), où les composés naturels comme les polyphénols et les tanins interagissent avec les régions aliphatiques autour des résidus de lysine produisant un effet antioxydant et anti-inflammatoire très puissant (**Choi et al., 2018**).

3.8. Activité hémostatique

L'étude de l'activité hémostatique de l'EXT a été réalisée par le test de recalcification plasmatique qui est un test plus sensible. Aux doses successives de 10 μL , 50, 100 et 200 μL de notre extrait confèrent une augmentation du temps de coagulation du plasma in vitro. Ainsi, l'EXT provoque un ralentissement de la coagulation du plasma. Les résultats de cette activité pourraient être expliqués par la présence des groupements hydroxyles des métabolites (polyphénols et flavonoïdes) qui contribuent à l'activité anticoagulante en contractant des liaisons hydrogène avec les protéines de la coagulation, telle que la thrombine, induisant leur inhibition (**Ghedadba et al., 2014**).

3.9. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion sur gélose contre *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 1117). L'extrait étudié avec la gamme de concentration utilisée n'a présenté aucune activité antibactérienne. Plusieurs facteurs influençant les dimensions des zones d'inhibition tels que la composition de milieu de culture, minutage de l'application des disques ou du dépôt des solutions d'extrait, la température et le durée d'incubation (**Andepitte et al., 1994**).

- **Conclusion**

- L'évaluation phytochimique de l'EXT a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires tels que les polyphénols, flavonoïdes, tanins, stérols et polyterpènes, avec quelques traces des alcaloïdes en plus des substances du métabolisme primaire à savoir des sucres réducteurs et des protéines. Toutefois, on note l'absence des stéroïdes, des saponosides, des anthocyanes, des quinones et des lignines.

- L'analyse quantitative des composés phénoliques dans cet extrait a donné une valeur de 48.8 µg EAG/mg d'extrait en polyphénols, de 8.07 µg EQ/ mg extrait en flavonoïdes et une valeur de 85.66 µg E catéchine/ mg extrait en tanins. Cet extrait renferme également une quantité modeste de sucres et de protéines.

- Par ailleurs, l'analyse de l'extrait par le FTIR a permis d'identifier les vibrations de OH des composés hydroxylés tels que le glucose, polyphénols, flavonoïdes,..., des vibrations CH indiquant la présence des composés aromatiques tels que des peptides aromatiques et des cycles de sucre pyranosidiques, des bandes aliphatiques =C-H indiquant la présence de graisse, des bandes (C=O) des esters de triacylglycérides, et des bande C≡N spécifiques du potentiel cyanogénique.

- L'analyse de l'extrait par HPLC-DAD a indiqué la présence de l'acide caféique, l'acide gallique, l'acide vanillique, l'acide tannique, catéchine, quercétine, genisteine, gossypine, naringin, rutine, sylimarine, amygdaline, diméthoxyflavone.

- Cet extrait est pourvu d'une activité antioxydante prouvé par différentes méthodes, d'une activité hémostatique et antiinflammatoire, mais cet extrait est dépourvu de l'activité antibactérienne

Chapitre 2

Neurotoxicité de THI et bioactivité de l'extrait de *P. armeniaca* L.

2. Neurotoxicité de THI après une exposition chronique chez le rat adulte et bioactivité de l'extrait hydroalcoolique des amandes amère d'abricot *P. armeniaca* L.

1. Matériel et méthodes

1.1. Préparation des solutions

Le pesticide choisi dans cette étude est le THI (non commercial calypso avec 480g/L) à une dose de 0,020 mg/kg/j administrée chroniquement par voie orale pendant 90 jours. Cette dose a été adoptée à partir d'une valeur réelle démontrée par une étude antérieure sur la teneur de THI dans les matrices biologiques, en l'occurrence la tomate fraîche qui était de l'ordre de 0,376 mg/kg (Omirou et al., 2009). La conversion de cette concentration à une dose administrée quotidiennement aux rats, a été réalisée par l'utilisation d'un facteur de conversion de 0.05 chez le rat (EFSA, 2011). Par ailleurs, la dose d'EXT utilisée dans le traitement préventif des animaux exposés au THI était de l'ordre de 50mg/kg/j (Kovacova et al., 2020).

1.2. Entretien et répartition des animaux

Des rats femelles pesant environ 250 g, ont été élevés dans l'animalerie de département de biologie, Faculté des SNV, Université de Batna 2. Les animaux ont été maintenus dans des conditions de température ambiante ($23\pm 2^{\circ}\text{C}$) avec une hygrométrie de 60% environ, avec un cycle photopériodique naturel 12/12H, et répartis dans des cages de dimensions (50×35×20 cm) contenant 08 rates chacun. Ils ont eu libre accès à la nourriture des rongeurs et à l'eau.

Les animaux ont été répartis en quatre (04) lots à raison de huit (08) rats par lot comme suit :

Lot **CON** : groupe contrôle recevant de l'eau distillée (à raison de 1mL/250 g de poids) par gavage pendant 90 jours.

Lots **EXT** : groupe extrait, recevant 50mg/kg/jour pendant 90 jours.

Lot **THI** : groupe thiaclopride, recevant 0,020 mg/kg/jour pendant 90 jours.

Lot **THI+EXT** : groupe extrait+THI, recevant l'extrait (50mg/kg/j) et le THI (0,020 mg/kg/j) pendant 90 jours.

1.3. Mesure du poids corporel

La mesure de poids corporel des rates est effectuée chaque jour pendant la durée de traitement à l'aide d'une balance de 500g max (Marque Aston®).

1.4. Les tests de comportement

L'approche neurocomportementale consiste en l'étude des effets de l'exposition aux toxiques sur le système nerveux. Dans la présente étude, nous avons évalué les différents aspects de comportement tels que la locomotion, la mémoire, l'apprentissage, l'anxiété et la dépression, la force musculaire et la coordination et l'équilibre en utilisant des tests adaptés à chaque comportement.

1.4.1. Test du champ ouvert (Open field test OF)

Le test open field (OF) est une procédure largement utilisée pour examiner généralement l'activité locomotrice et l'anxiété des animaux (Choleris et al., 2001). Dans cette étude, ce test a été utilisé pour mesurer la quantité (ambulation) et la qualité (rearing) de l'activité motrice, ce test a été développé par Hall et Ballachey en 1932 (Gould et al., 2009). Ce test est réalisé dans une enceinte carrée (50 x 50 x 50 cm), où le sol de cette enceinte est divisée en 16 carrés (Tatem et al., 2014). Au début, les rats ont été acclimatés dans la salle d'examen au moins 10 min avant le test, ensuite ils ont été placés individuellement dans le centre de l'enceinte, leur déplacement et la qualité de leur locomotion ont été observés et filmée pendant 5 minutes. Après chaque test le dispositif de l'OF est nettoyé par l'eau-alcool (50%) (Silva et al., 2004 ; Lima et al., 2007).

Pendant ce test, l'ambulation qui est le nombre de carrés traversés par l'animal et rearing, qui est le nombre de fois où l'animal repose sur ses pattes postérieures, ont été mesurés (Lima et al., 2007 ; Jurgenson et al., 2010) (figure 34).



Figure 33. Le test OF (réalisation personnelle).

1.4.2. Elevated plus maze (EPM)

EPM est l'un des tests le plus utilisé pour évaluer les niveaux d'anxiété chez les rongeurs, il a été conçu par Montgomery (1995), ce modèle de test est validé pour les rats et les souris (Okonogi, 2018), l'EPM se compose de deux bras ouverts (50×10 cm) opposés l'un de l'autre, traversés par deux bras fermés (50×10× 40 cm), il a été placé à 50cm au-dessus du sol (Carobrez and bertoglio, 2005 ; Zhang et al., 2020).

Dans ce test, l'animal est placé au centre de maze face à un bras fermé et laissé explorer cet environnement pendant 5min, son comportement est observé pour mesurer le temps passé dans les bras ouverts et fermés, le nombres d'entrées dans ces deux bras (Cha et al., 2005 ; Jurgenson et al., 2010). Le maze est nettoyé après chaque test avec une solution d'eau-alcool (50%) et comme résultat les rats qui sont restés confinés dans les bras fermés sont considérés comme étant anxieux (Frih et al., 2010 ; Soyly-Kucharz et al., 2016) (Figure 35).



Figure 34. Le test d'EPM (réalisation personnelle).

1.4.3. Test de force de nage

Le test de la nage forcée également connu sous le nom Forced Swimming Test, est un test comportemental utilisé pour l'évaluation de la dépression chez les rats et les souris (Frih et al., 2010) où dans ce test, les animaux sont placés individuellement dans un récipient cylindrique en verre ou en plastique (de 54 cm de hauteur X34 cm X60 cm), Ce récipient est rempli aux deux tiers avec de l'eau maintenue à une température de 26 ± 1 °C (Porsolt et al., 1978). Le comportement de l'animal dans le dispositif est enregistré à l'aide d'une caméra vidéo

permettant de mesurer le temps d'immobilité de l'animal qui reflète le degré de désespoir chez l'animal (Taibi et al., 2020) (Figure 36).



Figure

35. Le

test de la nage forcée (réalisation personnelle).

1. 4.4. Le NOR (novel object recognition)

NOR est une méthode classique pour évaluer la mémoire et l'apprentissage spatial après des altérations du système de neurotransmission et après des lésions ou des maladies cérébrales (Leger et al., 2013). Il a été proposé pour la première fois par Ennaceur et Delacour en 1988, ce test est basé sur la capacité des rats à reconnaître un nouvel objet dans son environnement (Antunes and Biala, 2011 ; Bouet et al., 2011). Ce test est composé d'une enceinte carrée éclairée (la même pour l'open field), où l'expérience comprend trois phases : adaptation, familiarisation et phase d'essai. Dans la phase d'adaptation, les rats explorent librement l'enceinte d'OF en l'absence d'objets pendant 5 min, vingt-quatre heures après l'adaptation, les rats sont soumis à une phase de familiarisation avec les deux objets identiques qui sont placés en positions opposées l'un à l'autre à l'intérieur de l'enceinte à la même distance du coin le plus proche. Les rats explorent ces deux objets identiques pendant 10 minutes et après 24 heures, les animaux sont placés dans la même enceinte, l'un des deux objets familiers est remplacé par un nouvel objet pour démarrer la dernière phase de test de 5 minutes. Durant cette phase le comportement des rats est enregistré avec une caméra vidéo afin de calculer l'indice de reconnaissance (IR) (Antunes and Biala, 2012), correspondant au pourcentage de la durée

d'exploration du nouvel objet par rapport à la durée totale d'exploration des deux objets (Jurgenson et al., 2010 ; Zhang et al., 2012), (Figure 37).

$$IR = \frac{\text{Temps d'exploration d'un nouvel objet}}{(\text{Temps d'exploration d'un nouvel objet} + \text{Temps d'exploration d'un objet familier})} \times 100$$



Figure 36. Le test NOR (réalisation personnelle).

1.4.5. Écran inversé de Konziela (Kondziela's Inverted Screen (KIS))

Le test d'écran inversé de konziela (KIS) est utilisé souvent pour mesurer la force musculaire en utilisant les quatre membres, publié en 1964 et utilisé pour évaluer les maladies neuromusculaire et la coordination (Tabassum, 2017). L'écran inversé est un carré de treillis métallique composé des carrés de 1 mm de diamètre. Il est bordé d'un bourrelet en bois de 4cm de profondeur. Avant le test les rats sont disposés 5-20 min dans la salle expérimentale, la procédure du test consiste à placer le rat au centre de l'écran métallique et démarrer le chronomètre, puis faites pivoter l'écran à une position inversée. Le moment de chute des rats est noté. Si ce temps est entre 1et 10 s le rat prend le score de 1 ; s'il est entre 10 et 26 s il prend le score de 2 ; entre 26 et 60 s il prend le score de 3 (Deacon, 2013), (Figure 38).



Figure 37. Le test KIS (réalisation personnelle)**1.4.6. Balance beam (BB)**

La Balance beam est un test comportemental que l'on utilise dans le but d'évaluer l'équilibre et la coordination d'un animal qui traverse une poutre (Gulinello, 2013). Les poutres sont constituées de longues bandes de bois de 1m de longueur avec 4cm de largeur et de 2cm de l'épaisseur. Ces poutres sont placées horizontalement à 50 cm au-dessus du sol, les deux extrémités sont mis sur un support en bois étroit et l'une des deux extrémités est attachée à une boîte noire en carton (20 cm de longueur) dans laquelle le rat pourrait s'abriter, afin de protéger les rats d'une chute, un écran de tissu est placé juste au dessous de la poutre (Luong et al., 2011).

Ce test se déroule en 3 jours consécutifs, 2 jours d'entraînement et 1 jour de test, où on mesure le temps nécessaire au rat pour traverser la poutre, cette dernière est nettoyée avec la boîte après chaque test (Hausser et al., 2018) (Figure 39).

**Figure 39. Le test Balance beam (réalisation personnelle).**

1.5. Estimation du poids relatif du cerveau

Le poids relatif du cerveau des rats PR ($\frac{\text{g}}{100\text{g}}$ de Poids corporel) est calculé par rapport au poids total du rat selon la formule suivante :

$$\text{PR} \left(\frac{\text{g}}{100\text{g}} \text{ de PTo} \right) = \frac{\text{P}}{\text{PTo}} \times 100$$

P : poids du cerveau (g). **PTo** : poids total de rat (g). **PR** : poids relatif de cerveau (g).

1.6. Préparation de la matrice mitochondriale de striatum et l'hippocampe

Après la décapitation des rats et l'extraction de striatum et l'hippocampe à partir du cerveau, ces deux régions tissulaires sont immergés dans le tampon TSE (10mM de tris, 250mM de sucrose et 1mM EDTA, pH= 7,2) à 4°C ; ensuite ils sont coupés finement et homogénéisé pour obtenir un homogénat de tissu de 10%. L'homogénat récupéré est centrifugé à 600g pendant 10 minutes pour l'élimination des gros débris cellulaires, le surnagent obtenu a été centrifugé à 10000g pendant 10 minutes, le culot de cette centrifugation est récupéré et resuspendu dans un tampon TS (10mM tris, 250 mM de sucrose, pH=7,2). La suspension obtenue a été centrifugée de nouveau à 10000 g pendant 10 minutes, le culot final obtenu est très riche en mitochondries, il a été remis dans le TS pour obtenir une suspension mitochondriale (Sahu et al., 2014). Pour récupérer la matrice mitochondriale, la suspension mitochondriale est congelée et décongelée 8 fois avec une potérisation intensive et répétée afin d'éclater les mitochondries, puis une centrifugation à 7993g pendant 10 minute a été réalisée. Le surnagent obtenu a été utilisé comme source des paramètres de stress tels que (GSH, SOD, CAT, GST, GPX, MDA), les procédure de l'isolement ont été réalisées à 4°C (Lahouel et al., 2016).

1.6.1. Evaluation du gonflement et de la perméabilité mitochondriale

Le gonflement mitochondrial a été évalué par méthode d'absorbance spectrophotométrique à 540 nm contre un blanc de TSE et comparé aux échantillons témoins. Le gonflement dans ce cas est inversement proportionnel au DO. La perméabilité mitochondriale est régulée par l'ouverture des pores de transition de perméabilité (mPTP) qui se trouvent au niveau de la membrane interne de la mitochondrie, où l'évaluation de ce phénomène basé sur le taux des ions de Ca^{++} qui traversent les membranes mitochondriales. L'entrée accrue de Ca^{++} conduit à l'augmentation de la taille de la mitochondrie qui est détectée à une longueur d'onde de 540 nm chaque 30 s pendant 3 minutes (Kristal et al., 1996).

1.6.2. Dosage des paramètres de stress oxydatif

1.6.2.1. Dosage des protéines

La quantification des protéines a été réalisée en utilisant la méthode de **Bradford (1976)**, une méthode colorimétrique qui se base sur l'utilisation du bleu de Coomassie comme réactif. Le bleu de Coomassie a la capacité de se lier aux groupements amines (-NH₂) présents dans les résidus protéiques, formant ainsi un complexe coloré de couleur bleue. Ce complexe est détecté spectrophotométriquement à une longueur d'onde de 595 nm. Brièvement, 5 µL de la matrice mitochondriale et 20 µL de TS sont prélevés auxquels 1 mL du réactif de Bradford est ajouté pour déclencher la réaction, après 10 min d'incubation, la densité optique est mesurée à 595 nm, contre un blanc (**Bradford, 1976**). La concentration des protéines est déterminée en utilisant une gamme d'étalonnage de BSA (1 mg/mL) réalisée dans les mêmes conditions (**Annexe10**).

1.6.2.2. Mesure de l'activité de catalase

L'activité de la catalase est évaluée en utilisant la méthode développée par **Clairbone (1985)**, Cette méthode se base sur la mesure de la diminution de la concentration de peroxyde d'hydrogène avec le temps. En suivant cette diminution d'absorbance à 240 nm. Les étapes de dosage de CAT sont les suivantes ; 50 µL de la source enzymatique (fraction mitochondriale de striatum ou l'hippocampe) a été additionné à 1 mL de tampon phosphate (0.1M, pH=7.4). La réaction est déclenchée après l'ajout de substrat H₂O₂ (0.019M), la lecture des densités optiques s'effectue à 240 nm toutes les 30s pendant 3 min. Les résultats sont exprimés en UI/mg de protéines.

1.6.2.3. Mesure de l'activité de la Superoxyde dismutase (SOD)

La Superoxyde dismutase est évaluée selon la méthode décrit par **Beauchamp et Fridovich (1971)**. Cette méthode repose sur une réaction entre le nitrobleu de tétrazolium (NBT) et l'anion superoxyde, qui est généré lors de la photoréaction entre l'oxygène et la riboflavine en présence d'un donneur d'électrons tel que la méthionine. L'activité de la SOD est déterminée par la capacité de l'enzyme à inhiber cette réaction. Cette inhibition peut être mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 560 nm. Brièvement, 2 mL d'un milieu réactionnel qui contient le cyanide de sodium 10⁻²M, la solution du NBT 1.76x10⁻²M, EDTA 66 mM, la riboflavine 2x10⁻³M et le tampon phosphate à p H 7.8 et 50 µL de la source enzymatique (fraction mitochondriale), et 0,1 mL de solution de méthionine 10⁻²M. Le mélange est soumis à un rayonnement solaire pendant 15 minutes. Avec un tube contrôle est préparé avec du tampon

phosphate (pH=7.8) dans les mêmes conditions que les échantillons. L'absorbance est mesurée à 560 nm.

1.6.2.4. Dosage de malondialdehy (MDA)

Le malondialdehyde est l'un des produits générés lors de la peroxydation lipidique, et il peut être utilisé comme marqueur du stress oxydatif. Le dosage du MDA est effectué selon la méthode développée par **Niehius et Samuelson (1968)**, qui basée sur la réaction entre le MDA et l'acide thiobarbiturique (TBA) dans un milieu acide et chaud (à une température de 100 °C). Cette réaction conduit à la formation d'un pigment coloré qui peut être mesuré par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 532 nm. Brièvement, 2mL d'un réactif constitué de TBA 37%, TCA 15%, HCl 0.25N (1v, 1v, 1v) est mélangé avec 0.5 mL de la fraction mitochondriale, ce mélange est incubé dans un bain marie à 100°C pendant 15 min puis refroidi et centrifugé pendant 10 min, l'absorbance de surnageant formé a été mesurée par un spectrophotomètre à 532 nm (**Shagirtha and Pari, 2011**).

1.6.2.5. Dosage de glutathion

La méthode de dosage de GSH la plus courante est la méthode **d'Ellman (1959)** et **Moron et al. (1979)**, qui repose sur la réduction du réactif d'Ellman (DTNB) par les groupes (SH) pour former l'acide 2-nitro-mercaptobenzoïque, qui se caractérise par une coloration jaune et une absorption maximale à 412 nm. La procédure de dosage se résume par le mélange de 2mL de tampon phosphate à pH 8 avec 50 µL de la fraction mitochondriale et 20µL de réactif d'Ellman (DTNB), après 15minute d'incubation de ce mélange à température ambiante, L'absorbance est mesurée à 412 nm en utilisant un blanc préparé dans des conditions identiques. Les concentrations de GSH sont exprimées en millimoles par millilitre (mmol/ml) et sont calculées en se référant à une gamme étalon de GSH préparée dans les mêmes conditions que le dosage (**Annexe 07**).

1.6.2.6. Mesure de l'activité de glutathion-s-transférase

L'activité de GST a été mesurée en appliquant la méthode de **Habig et al. (1974)**, en utilisant 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) comme substrat. Brièvement, l'incubation dans un bain marie à 37°C pendant 10 min d'un milieu réactionnel constitué de 850µL de tampon phosphate (0.1M et un pH = 6.5) et 50 µL de réactif de CDNB à 20 mM, puis la réaction est déclenchée par l'addition de 50µL d'une solution de GSH de 20mM et 50µL de la fraction mitochondriale. La réaction de conjugaison entre le GSH et le CDNB par l'enzyme GST donne un composé qui

absorbe à 340 nm. Ainsi, l'absorbance est mesurée toutes les 30 secondes pendant une durée de 4 minutes en comparaison avec un contrôle préparé dans les mêmes conditions contenant un tampon phosphate. Les résultats sont exprimés en (UI/mg de protéines).

1.6.2.7. Mesure de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx)

L'activité enzymatique de GPx a été mesurée en utilisant la méthode développée par **Flohé et Günzler (1984)**. Cette méthode repose sur la capacité de la GPx à réduire H₂O₂ en présence de GSH, ce qui conduit à la formation de glutathion oxydé (GSSG). Brièvement un volume de 0.2 mL de matrice mitochondriale est mélangé avec 0.4 mL de GSH (0.1 mM) et 0.2 mL de tampon phosphate (0.1 M, pH=7.8). Le mélange est incubé à une température de 25 °C dans un bain-marie pendant 5 minutes. La réaction est déclenchée en ajoutant 0.2 mL d'H₂O₂ (1.3 mM). Après 10 minutes, 1 mL d'acide trichloroacétique (TCA) à 1% est ajouté au mélange pour arrêter la réaction. Le mélange est ensuite placé dans la glace pendant 30 minutes. Suivi par une étape de centrifugation à 1430 g pendant 10 minutes. Puis un volume de 0.48 mL du surnageant est prélevé et mélangé avec 2.2 mL de Na₂HPO₄ (0.32 M) et 0.32 mL de DNTB (1 mM). Ce mélange réagit pour former un composé coloré qui est mesurée à une longueur d'onde de 412 nm toutes les 30 secondes pendant 5 minutes.

1.7. Préparation de la fraction cytosolique

Pour obtenir la fraction cytosolique les tissus de striatum et de l'hippocampe ont été homogénéisés avec 3 volumes de tampon phosphate 0.1M contient le KCl 17%, cet homogénat a été centrifugé pendant 10 minutes à 3000 g pour éliminer les débris cellulaires, le surnageant obtenu a été récupéré et centrifugé pendant 30 minutes à 10000 g, le surnageant final est considéré comme fraction cytosolique (**Iqbal et al., 2003**).

1.7.1. Mesure de l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase (AChE)

Le dosage d'AChE est réalisé en utilisant la méthode développée par **Ellman et al. (1961)**. Cette méthode est basée sur la réaction d'oxydo-réduction entre le DTNB (acide 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoïque)), également connu sous le nom de réactif d'Ellman, et la thiocholine. La thiocholine est produite par la réduction enzymatique de l'acétylthiocholine, qui est le substrat de l'AChE. Le groupement thiol présent dans la thiocholine réduit le DTNB en TNB (acide 5-thio (2-nitrobenzoïque)). Le TNB est un composé jaune qui présente une absorbance maximale à une longueur d'onde de 412 nm. Brièvement, 100µL de fraction cytosolique sont mélangés avec 100µL de DTNB (0.1M, pH 8) (39.6mg de DTNB, 15mg CO₃Na, dans 10ml tris 0.1M, pH= 7) et

1ml du tampon tris (0.1M, pH= 7). Après l'incubation pendant 5min du mélange précédent, 100µL de substrat acétylthiocholine (118mg ACh dans 5mL d'eau distillée) sont ajoutés. La lecture des densités optiques s'effectue à 412nm toutes les 4min pendant 20min.

1.8. Dosages des paramètres apoptotiques dans le striatum et l'hippocampe

1.8.1. Préparation des lysats tissulaires

La préparation du lysat cellulaire à partir de striatum et l'hippocampe en appliquant la procédure décrite par **Ahmed et al. (2013)**. Brièvement, les tissus de striatum ou d'hippocampe (0,5 g) ont été hachés et homogénéisés dans 1 mL de tampon de lyse [20 mM HEPES (pH de 7,5), 150 mM NaCl, 1 % NP-40, 0,1 % SDS, 1 mM EDTA et 1,0 mM DTT] en présence des inhibiteurs protéasique (2 µg chacun de pepstatine A, leucpeptine, aprotine, et 0,5 mM de phénylméthylsulfonyl fluorure, pour empêcher la digestion protéase des protéines). Ce milieu réactionnel a été incubé sur la glace pendant 30 min, puis centrifugé à 10000 g à 4 °C pendant 20 min. Des lysats tissulaires ont été extraits afin d'évaluer les différents paramètres apoptotiques (Cytochrome- c, Caspase 3 et 9, Bcl2 et Bax).

1.8.1.1. Cytochrome-c

La détermination de l'activité de cytochrome-c (cyt-c) dans les lysats tissulaires a été évaluée à l'aide de Kit d'analyse (CYTOCOX1), mesurée à 550 nm, Sigma®, Allemagne. Ce test colorimétrique est basé sur la diminution du taux de ferrocytochrome-c dans le milieu réactionnel par son oxydation cytochromique en ferricytochrome-c.

1.8.1.2. Caspases-3 et 9

La détermination des activités des caspases-3 et 9 a été effectuée à l'aide des Kits commerciales (Caspase-3 et caspase-9 Colorimetric Activity Assay Kits, respectivement Part No. 90079 et Part No. 90083, Sigma®, Allemagne) qui peut fournir un moyen simple de mesurer les activités caspase-3 et 9. Ces enzymes reconnaissent leurs substrats respectivement Ac-DEVD-pNA et Ac-LEHD-pNA et éliminent le chromophore p-nitroaniline (p-NA) qui peut être quantifié à l'aide d'un spectrophotomètre à 405 nm. Les deux activités des caspases sont proportionnelles à la quantité de p-NA. Une unité de caspase-3 et 9 est la quantité d'enzyme nécessaire pour transformer 1 pmol de son substrat approprié par minute à 30 °C. Les concentrations ont été exprimées en Absorbance/mg de protéines (Abs/mg pr.).

1.8.1.3. Bcl2 (lymphome à cellules B 2) et de Bax (protéine X associée à Bcl2)

La détermination des concentrations de Bcl2 et de Bax a été réalisée à l'aide de Kit ELISA (Uscn Life Science Inc.). Les concentrations étaient exprimées en ng/mg de protéines tissulaires.

1.8.1.4. Dosage de Ca⁺⁺ cytosolique

Le dosage de calcium a été effectué par la méthode de **Kaplan et al. (1984)**, qui est fondée sur la formation d'un complexe coloré dans un milieu alcalin entre le calcium de l'échantillon (fraction cytosolique de striatum et d'hippocampe) et l'o-crésolphtaléine, en utilisant des kits commerciaux (**Réf : 1001061**) spectrophotométrique fabriqués par SPINREACT, ESPAGNE, les résultats sont exprimés en mmol/l.

1.9. Histologie

La réalisation des coupes histologique du cerveau se fait en suivant ces étapes ; la fixation par immersion des organes dans un grand volume de formol, puis les tissus ont été déshydratés dans l'éthanol à différentes concentrations (70%, 95%, 100%). Ces étapes sont suivies par la clarification des tissus dans 2 bains de xylène, chaque bain dure 45 minutes. L'étape suivante est l'inclusion des échantillons dans deux bains successifs de paraffine pendant une heure chacun à une température de 56°C puis coulés dans des moules plastiques. Après l'inclusion à la paraffine, les blocs contenant les tissus sont coupés à l'aide d'un microtome à une épaisseur de 7 µm. Une fois les coupes sont réalisées, les lames de verre sont recouvertes d'une solution contenant 2g d'albumine et 50ml de glycerine solubilisés dans 1000ml d'eau distillée. L'étape suivante est le déparaffinage permettant d'éliminer la paraffine afin de procéder aux différentes colorations (hématoxyline-éosine (H&E)), violet de crésyl (neurones)) des coupes permettant de visualiser les anomalies cellulaires et tissulaires des éléments de la préparation. Après le séchage des lames, des photographies ont été prises en utilisant un appareil photo liée au microscope (ZEISS) (**Houlot, 1984**).

1.10. Analyses statistiques

Les résultats ont été présentés sous forme de moyenne \pm écart type. L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du logiciel XLSTAT 2014.5.03. La significativité des différences entre le groupe témoin et les groupes traités, ainsi que entre le groupe THI et les groupes traités, a été évaluée à l'aide du test ANOVA one-way suivi du test de Tukey. Les résultats de ces comparaisons ont été exprimés comme suit:

ns $p > 0,05$ = la différence non significative, - (*) $0,05 > P > 0,01$ = la différence est significative, - (**) $0,01 > P > 0,001$ = la différence est hautement significative, - (***) $P < 0,001$ = la différence est très hautement significative par rapport au groupe témoin. Et # $P < 0,05$; ## $P < 0,01$; ### $P < 0,001$, groupes comparés au groupe THI. Et pour mieux illustrer ces résultats l'office Excel 2016 a été utilisé pour les représentés sous forme des graphiques et des histogrammes.

2. Résultats

2.1. Variation mensuelle du poids corporel

La variation mensuelle du poids corporel chez les rats contrôle et les traités pendant 3 mois, est illustrée dans le **tableau 08**. L'analyse statistique de ces résultats a permis de détecter une différence significative ($p < 0,05$) sur la prise du poids des animaux traités par le THI durant la période étudiée à partir de 2ème mois en comparaison avec le groupe contrôle.

Tableau 8. La variation mensuelle du poids corporel, chez les rats traités durant 3 mois.

	Mois 1	Mois 2	Mois 3
CON	229,71 ± 2,81	259,43 ± 1,27	283,57 ± 1,40
THI	230,29 ± 2,29 ns	247,57 ± 2,44 *	267,43 ± 2,64 *
EXT	227,43 ± 1,90 ns	258,00 ± 1,63 ns	288,29 ± 1,60 ns
THI+EXT	229,71 ± 1,38 ns	254,86 ± 2,34 ns	279,00 ± 2,38 ns

2.2. Estimation du poids relatif du cerveau

Les résultats de la présente étude montrent une diminution significative du poids relatif de cerveau des rats traités par le THI par rapport au contrôle. Ces résultats ont montré une amélioration significative ($p < 0,05$) du poids chez le groupe THI+EXT en comparaison avec le groupe THI (**Tableau 9**).

Tableau 9. La variation de poids relatif de cerveau des rats contrôle et des rats traités.

Les lots	CON	THI	EXT	THI+EXT
poids relatif g	0,68 ± 0,02	0,62 ± 0,04*	0,66 ± 0,03 ns	0,69±0,02 #

2.3. Évaluation des changements comportementaux et cognitifs

2.3.1. Évaluation de la locomotion des rats par le test OF

L'analyse statistique des résultats enregistrés par le test OF montre une altération de l'activité locomotrice, où nous avons enregistré une diminution significative ($p < 0,05$) de l'activité horizontale (l'ambulation) et l'activité verticale (rearing) chez les rats traités par le THI par rapport au groupe contrôle. Ajouté à cela une augmentation de l'activité horizontale chez les lots traités par l'extrait en comparaison avec le lot traité par le THI (**Figure 40**).

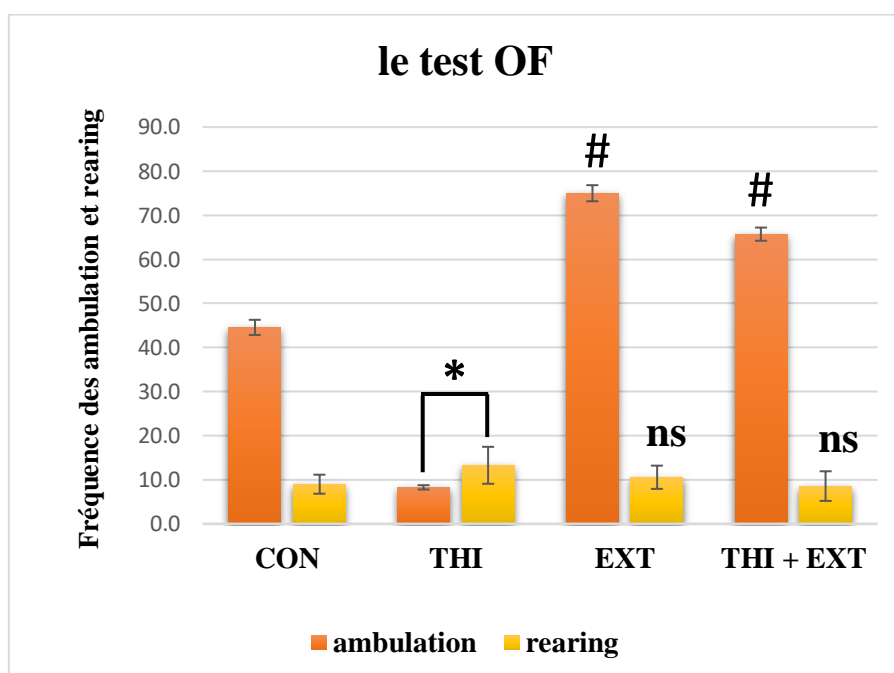


Figure 38. Evaluation de l'activité locomotrice horizontale (ambulation) et verticale (rearing) par le test OF, chez les rats contrôle et traités pendant 90 jours.

2.3.2. Evaluation de l'anxiété des rats par le test EPM

Les résultats de cette présente étude montrent une augmentation significative ($p < 0,05$) du temps passé dans le compartiment sombre et une diminution significative ($p < 0,05$) de temps

passé dans le compartiment éclairé chez le lot traité par le THI en comparaison avec le lot contrôle. Tandis que, une diminution non significative de temps passé dans le compartiment sombre est observée chez les groupes EXT et THI+EXT par rapport au groupe THI. De plus, nous avons enregistré une diminution significative ($p<0.05$) de nombre d'entrées dans le compartiment éclairé et le compartiment sombre chez les rats traités par le THI en comparaison avec le groupe CON (**Tableau 10**).

Tableau 10. Evaluation de la variation du temps passé par les rats dans une chambre sombre et éclairée et le nombre d'entrées dans ces chambres.

	Le temps passé dans la chambre sombre en %	Le temps passé dans la chambre éclair en %	Nombre d'entrées dans les chambres éclairé et sombre
CON	5,57 ± 0,53	94,43 ± 0,54	9,00 ± 2,16
THI	97,00 ± 1,41 *	3,00 ± 1,41 *	2,00 ± 0,82 *
EXT	30,29 ± 3,50 ^{ns}	69,71 ± 3,50 ^{ns}	8,43 ± 0,98 ^{ns}
THI + EXT	34,00 ± 1,15 ^{ns}	66,00 ± 1,15 ^{ns}	6,29 ± 0,95 ^{ns}

2.3.3. Evaluation de la dépression par le test de la nage forcée

L'analyse statistique des résultats obtenus par ce test montre un temps d'immobilité (TIM) hautement significativement supérieure ($p<0.01$) chez le groupe THI par rapport au groupe CON. Cependant, la même analyse a montré que les rats traités par l'extrait passent un temps de mobilité significativement ($p<0.05$) plus long que celui des rats traités par le THI. Aussi, ces mêmes résultats ont montré une diminution significative ($p<0.05$) de temps d'immobilité chez le groupe THI+EXT en comparaison avec le groupe THI (**Figure 41**).

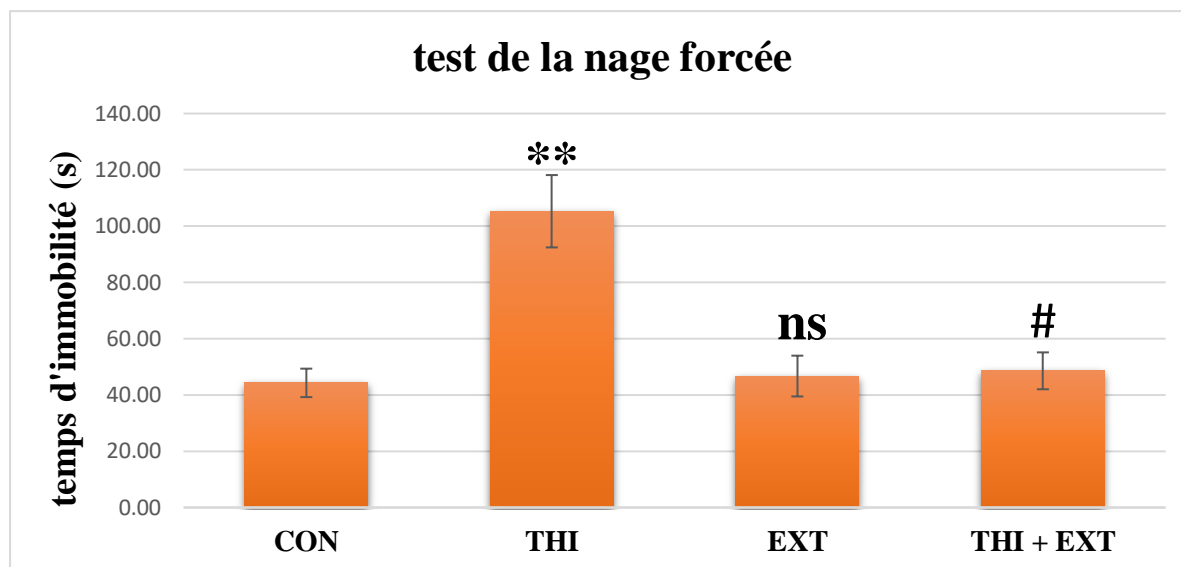


Figure 39. Evaluation du niveau de dépression, exprimé par le temps d'immobilité, des différents groupes traités en utilisant le test de la nage forcée.

2.3.4. Test de Novel Object Recognition (NOR)

Selon les résultats obtenus dans ce test, l'indice de reconnaissance (IR), qui présente le temps d'exploration du nouvel objet, a montré une diminution hautement significative ($p < 0,01$) chez le groupe THI en comparaison avec le groupe CON. Par ailleurs, ces résultats ont montré une augmentation significative ($p < 0,05$) de IR chez les groupes EXT et EXT+THI par rapport au groupe THI (Figure 42).

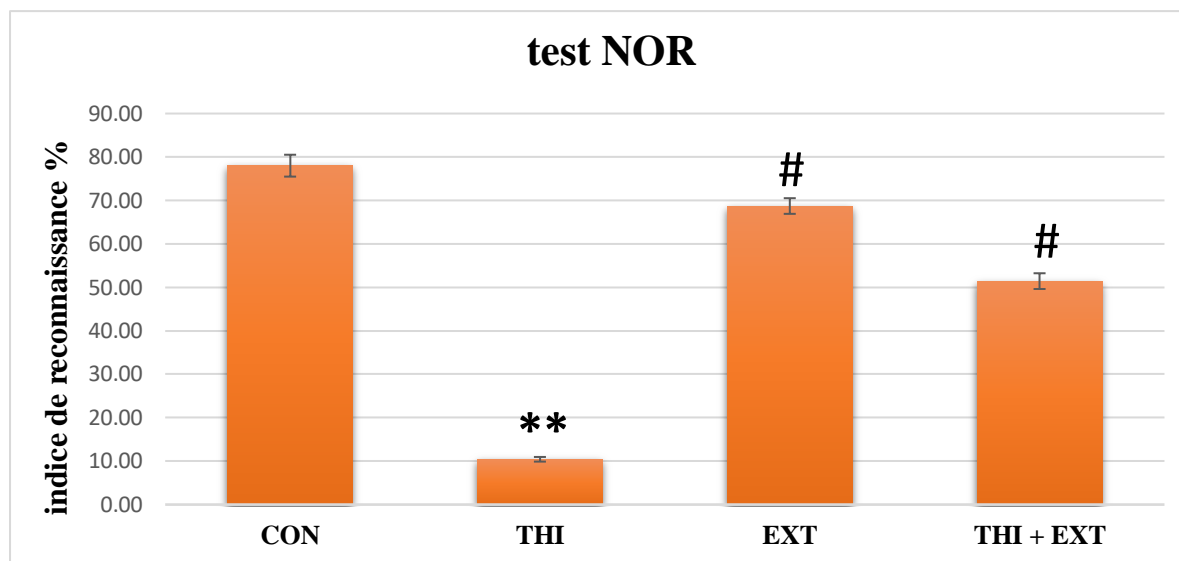


Figure 40. Evaluation de la mémoire et l'apprentissage des différents rats traités chroniquement en utilisant le test NOR.

2.3.5. Test d'Écran inversé de Konziela (Kondziela's Inverted Screen (KIS))

Les résultats obtenus en appliquant le test KIS, ont montré une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) du temps de fixation des rats traités par le THI à l'écran inversé. Tandis que les groupes EXT et EXT+THI ont montré également une augmentation significative ($p < 0.05$) de ce temps de fixation par rapport au groupe CON alors que ces même groupes ont enregistré une diminution hautement significative ($p < 0.01$) du temps de fixation des rats à l'écran inversé en comparaison avec le groupe THI (**Figure 43**).

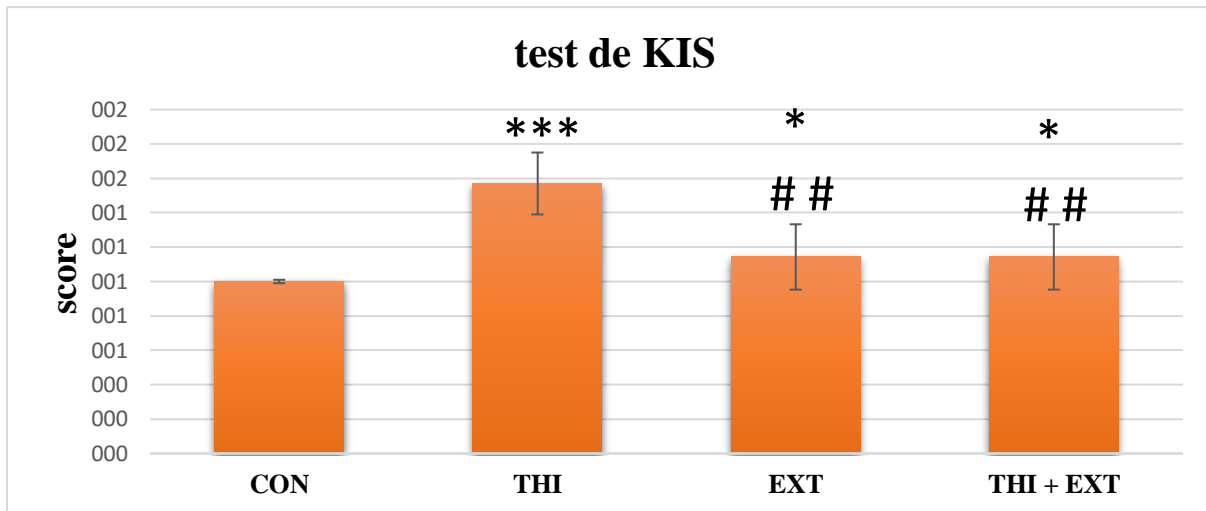


Figure 41. Evaluation de la force musculaire des rats exposés chroniquement à des différents traitements en utilisant le test KIS.

2.3.6. L'évaluation de l'équilibre par le test balance beam (BB)

L'application de ce test a donné des résultats qui ont révélé une augmentation de temps de marche significative ($p < 0.05$) sur la poutre (beam) chez le groupe THI et THI+EXT par rapport au groupe CON. Par ailleurs ces résultats ont montré une diminution non significative de ce temps chez les lots EXT et EXT+THI en comparaison avec le lot THI (**Figure 44**).

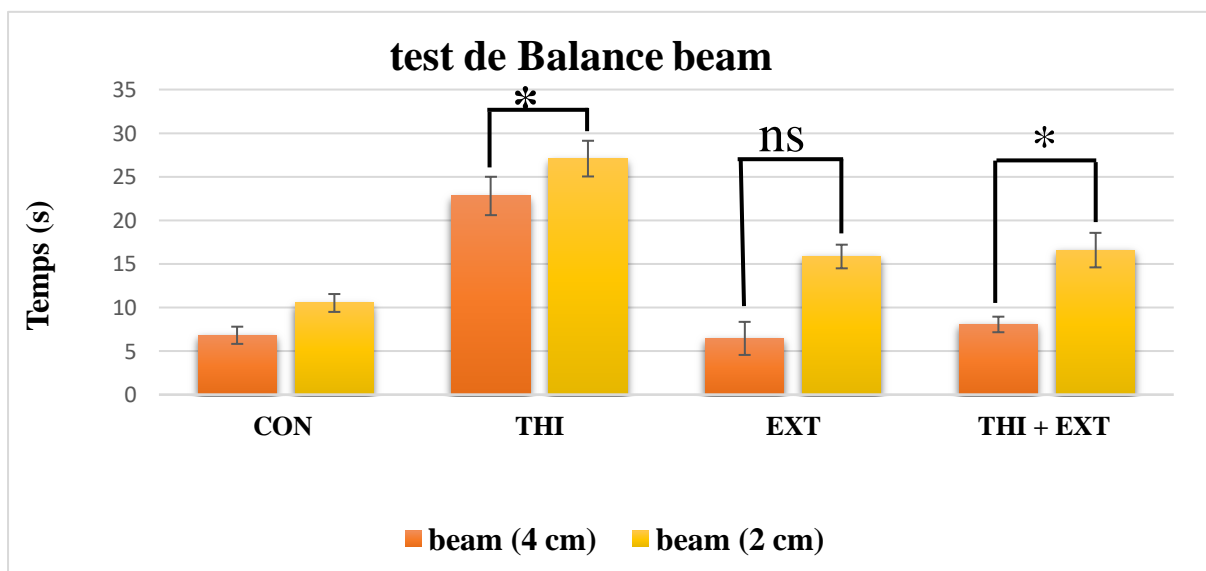


Figure 42. Evaluation de l'équilibre et la coordination des rats exposés chroniquement aux différents traitements en utilisant le test de balance beam.

2.4. Evaluation des paramètres de stress (Tableau 11)

SOD : les résultats obtenus ont montré une diminution hautement significative ($p < 0.001$) et significative ($p < 0.05$) de l'activité de la SOD mitochondriale dans le striatum et l'hippocampe respectivement chez les rats exposés au THI en comparaisons avec le lot contrôle. De plus, les lots EXT et EXT+THI montrent une amélioration significative ($p < 0.05$) de l'activité de la SOD dans l'hippocampe et striatum en comparaison avec le lot THI.

CAT : l'évaluation de l'activité de la CAT a montré un déficit hautement significatif ($p < 0.01$) de l'activité catalasique mitochondriale dans le striatum et l'hippocampe chez le groupe THI en comparaison avec le contrôle. Cependant cette évaluation a montré une amélioration significative ($p < 0.05$) de l'activité de la CAT chez le groupe EXT et EXT+THI en comparaison avec le lot THI.

MDA : Les résultats de l'évaluation de la peroxydation lipidique ont montré une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) et une augmentation significative ($p < 0.05$) de production du MDA chez le groupe THI respectivement dans le striatum et l'hippocampe. Par ailleurs les groupes EXT et EXT + THI ont marqué une diminution significative du taux du MDA au niveau de striatum en comparaisons avec le lot CON. Or, en comparaison du groupe EXT avec le lot THI nous avons remarqué une diminution du taux MDA dans l'hippocampe.

GSH : Les résultats obtenus à partir de cette étude ont montré un épuisement significatif ($p < 0.05$) de GSH mitochondrial du striatum et de l'hippocampe chez le groupe THI par rapport au CON. Les groupes EXT et EXT+THI ont montré par ailleurs une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de GSH dans l'hippocampe par rapport au lot THI.

GST : Les résultats de cette présente étude ont montré une augmentation de l'activité de GST mitochondriale de façon significative ($p < 0.05$) dans le striatum et l'hippocampe des rats traités par le THI en comparaisons avec le CON, aussi une diminution significative ($p < 0.05$) de l'activité de GST dans l'hippocampe a été également enregistrée chez les lots EXT et EXT+THI par rapport au lot THI.

GPX : Les résultats obtenus suite à l'évaluation de l'activité enzymatique de GPX ont enregistré une diminution de son activité mitochondriale de façon significative ($p < 0.01$) dans le striatum et l'hippocampe chez le groupe THI par rapport au

CON. Ces résultats ont montré une amélioration hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité de GPX chez les lots EXT et EXT+THI par rapport au groupe THI.

Tableau 11. Variation de glutathion (mitGSH), Malondialdéhyde (mitMDA), l'activité enzymatique de glutathion peroxydase (mitGPx), glutathion S-transferase (mitGST), superoxyde dismutase (mitSOD), et catalase (mitCAT) dans l'hippocampe et le striatum

		CON	THI	EXT	THI + EXT
CAT (UI/mg de protéines)	str	0,05±0,004	0,005±0,001*	0,047±0,002#	0,033±0,002 ns
	hipp	0,08±0,01	0,010±0,002**	0,058±0,01##	0,065±0,01 ns
SOD (UI/mg de protéines)	str	77,23±8,0	14,54±1,46**	72,89±9,00 ##	48,28±5,08 #
	hipp	83,39±2,92	16,37±1,09*	52,40±2,22ns	55,00±3,16 #
MDA (nmol/mg de protéines)	str	0,89±0,11	1,14±0,04**	0,70±0,06*	0,66±0,05*
	hipp	0,74±0,03	1,58±0,09*	0,59±0,03#	0,085±0,04ns
GSH (mmol/mg de protéines)	Str	0,20±0,02	0,08±0,01*	0,27±0,03ns	0,14±0,02ns
	Hipp	0,28±0,02	0,09±0,01*	0,27±0,02 ###	0,21±0,02###
GPX (nmol/mg de protéines)	Str	0,04±0,005	0,01±0,001*	0,044±0,003 ##	0,03±0,005ns
	Hipp	0,06±0,01	0,01±0,001*	0,06±0,01#	0,040±0,010##
GST (UI/mg de protéines)	Str	7,68±0,20	17,56±1,04*	8,17±0,47ns	7,60±0,47ns

Hipp: hippocampe, *Str*: striatum.

2.5. AChE

Dans la présente étude, une diminution significative ($p < 0.05$) et hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité de l'acétylcholine estérase au niveau de l'hippocampe et le striatum a été enregistré chez le lot THI par rapport au CON. Cette même étude a montré une amélioration significative ($p < 0.05$) de l'activité de l'AChE chez les groupes EXT et EXT+ THI en comparaison avec le groupe THI (Figure 45).

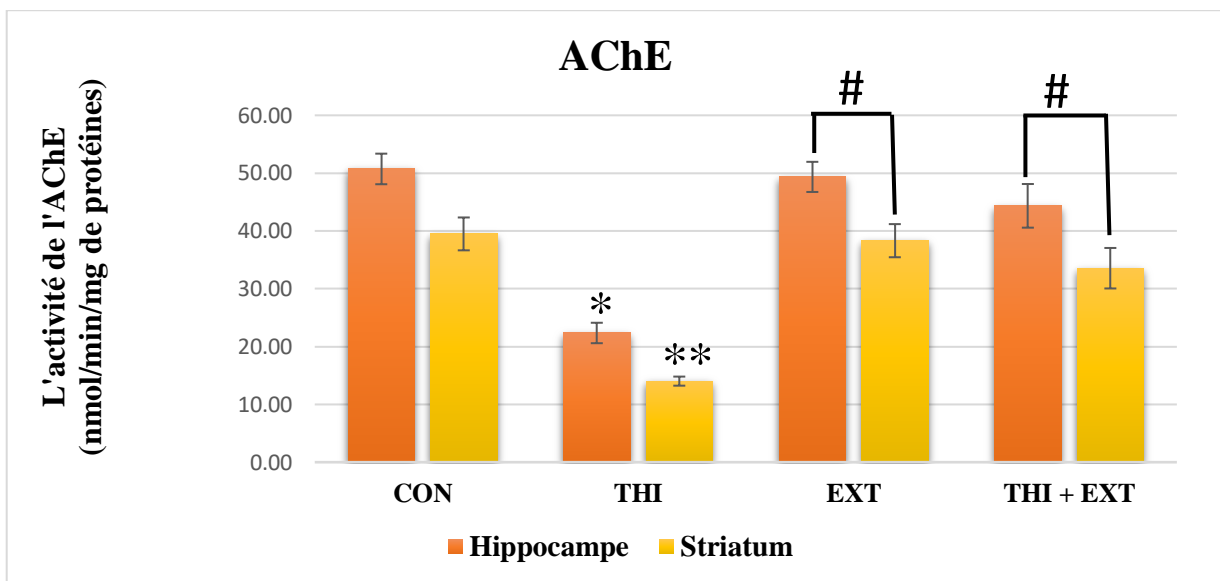


Figure 43. Variation de l'activité enzymatique de l'AChE dans l'hippocampe et le striatum après le traitement par le THI et l'extrait pendant 90 jours.

2.6. Evaluation de gonflement et perméabilité mitochondriale (Tableau 12)

L'exposition des rats au THI a montré une augmentation de gonflement mitochondrial très hautement significative ($p < 0.001$) (diminution de l'absorbance) dans l'hippocampe, et une augmentation significative ($p < 0.05$) dans le striatum par rapport au groupe CON. Cependant cet extrait a prouvé une protection de façon très hautement significative ($p < 0.05$) et hautement significative ($p < 0.01$) des pores mitochondriales respectivement dans l'hippocampe et striatum, justifié par une diminution de ce gonflement en comparaison au groupe THI.

Lors de l'évaluation de la perméabilité mitochondriale, le lot traité par le THI a montré une augmentation également de la perméabilité mitochondriale de façon significative ($p < 0.05$) et hautement significative ($p < 0.01$) respectivement dans le striatum et l'hippocampe en

comparaison avec le lot CON. Tandis que les lots EXT et EXT+THI ont montré une diminution significative ($p < 0.05$) et hautement significative ($p < 0.01$) de perméabilité respectivement dans le striatum et l'hippocampe en comparaison avec le lot THI.

Tableau 12. Le gonflement et la perméabilité mitochondriale dans le striatum et l'hippocampe des différents groupes d'animaux.

Les lots	Les regions de cerveau	Gonflement mitochondrial (densité optique)	Perméabilité mitochondriale ($\Delta OD/\Delta t$)
CON	Str	0,064 \pm 0,001	0,014 \pm 0,001
	hipp	0,209 \pm 0,001	0,004 \pm 0,0001
THI	Str	0,016 \pm 0,002 *	0,057 \pm 0,005*
	hipp	0,106 \pm 0,003***	0,054 \pm 0,0005**
EXT	Str	0,220 \pm 0,003 **	0,013 \pm 0,001#
	hipp	0,381 \pm 0,003 ***	0,005 \pm 0,0001###
THI + EXT	Str	0,196 \pm 0,002 *	0,020 \pm 0,002 ^{ns}
	hipp	0,244 \pm 0,001###	0,005 \pm 0,0002###

. *Hipp*: hippocampe, *Str*: striatum.

2.7. Évaluation des marqueurs apoptotique dans le str et hipp

Les résultats de la présente étude ont montré une augmentation significative ($p < 0.05$) des taux de Cyt-c, Bax, caspase-3 et 9 et Ca^{++} dans les deux régions étudiées de cerveau chez les rats traités par le THI avec différents degrés de signification statistique respective ($p < 0.05$, $p < 0.001$, $p < 0.01$, $p < 0.01$, $p < 0.01$) en comparaison avec le groupe CON. Alors que la teneur en Bcl2 dans les lysats tissulaire de ces deux régions a diminué de façon significative ($p < 0.05$), d'autre part, ces paramètres apoptotiques n'ont pas été observés dans les deux groupes EXT et THI+EXT par rapport au groupe CON, donc l'administration de l'extrait des amandes amères

des noix d'abricot avec le THI a empêché de façon significative la variation des taux de ces marqueurs apoptotiques (**Tableau 13**).

Tableau 13. Variation des marqueurs d'apoptose dans le striatum et l'hippocampe chez les différents rats traités par le THI et l'extrait pendant 90 jours.

Les lots	Regions de cerveau	Regions de cerveau			
		CON	THI	EXT	THI +EXT
Cyt-c(µg/ml)	str	1.42 ± 0.22	4.48 ± 1.26*	1.34 ± 0.88 ##	2.42 ± 0.42 #
	hipp	1.12 ± 0.18	5.32 ± 1.08*	0.98 ± 0.16 #	1.98 ± 0.22 #
Bax (ng/mg pr.)	str	07.5 ± 0.42	15.2 ± 0.82***	06.6 ± 0.62 ###	14.64 ± 1.22 ns
	hipp	08.6 ± 0.94	17.6 ± 1.24***	07.2 ± 1.44##	12.52 ± 2.64#
Bcl2 (ng/mg pr.)	str	24.6 ± 2.24	16.4 ± 1.86*	25.2 ± 2.60 #	18.46 ± 1.22 ns
	hipp	18.2 ± 0.55	14.8 ± 0.82*	19.4 ± 1.80 #	18.54 ± 0.86 #
Bax/Bcl2ratio (valeur Moyenne)	str	0.304	0.926	0.261	0.793
	hipp	0.307	1.189	0.371	0.675
Caspase-3 (Abs/mg pr.)	str	090 ± 14	184 ± 16**	080 ± 12 #	160 ± 12 ns
	hipp	110 ± 18	250 ± 42 *	070 ± 16 #	096 ± 14 #
Caspase-9 (Abs/mg pr.)	str	120 ± 20	278 ± 14**	130 ± 14 ##	238 ± 21ns
	hipp	098 ± 08	212 ± 24**	102 ± 12#	152 ± 18 #
Ca++ cytosolique (mmol/l)	Str	1.65 ± 0.10	2.26 ± 0.06*	1.64 ± 0.12#	1.65 ± 0.08 ns
	hipp	1.29 ± 0.02	2.32 ± 0.07 *	1.37 ± 0.03 ns	1.54 ± 0.06 ns

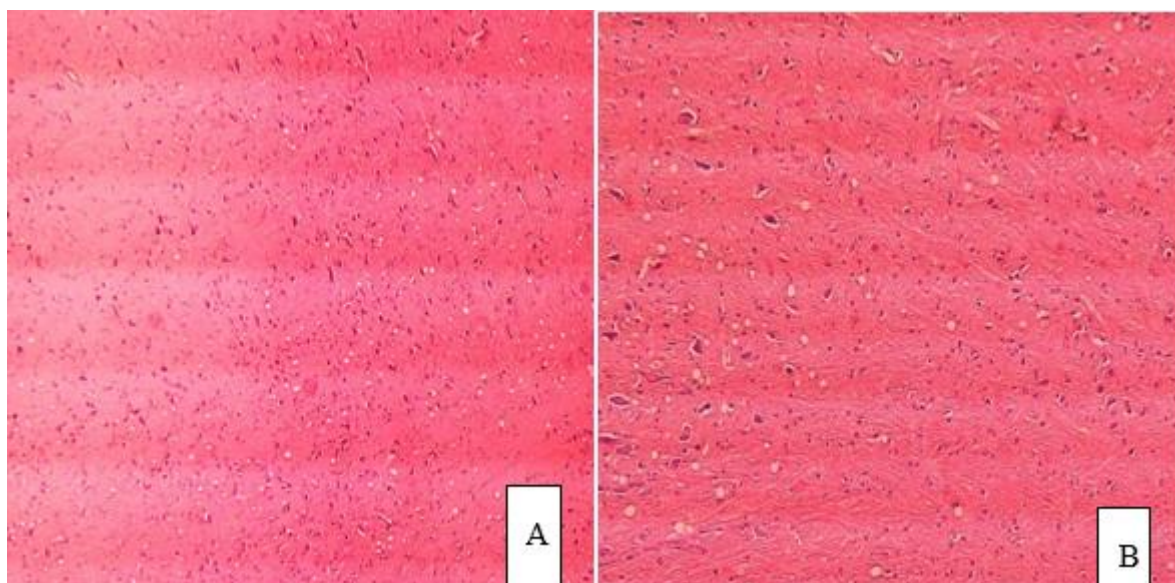
. *hipp*: hippocampe, *Str*: striatum.

2.8. Etude histopathologique du cerveau (Figure 46)

L'observation microscopique des coupes histologiques effectuées sur le cerveau du groupe CON a révélé une architecture et distribution normale des neurones, en outre ces neurones et cellules gliales forment un neuropil intact dans le cerveau (**A**).

Les rats traités par l'EXT (**B**) et la combinaison (THI+EXT) (**C**) ont une architecture normale et une structure similaire à celle du groupe CON. Cependant une dégénérescence neuronale modérée est apparue dans le groupe de la combinaison en question.

L'observation histologique des sections effectuées sur le cerveau des rats traités par le THI ont manifesté des changements morphologiques par rapport au groupe CON, où les cerveaux de groupe THI présentent une dégénérescence et des hémorragies neuronales accompagnées d'une dégénérescence sévère des cellules microgliales (**flèche**), de plus nous avons enregistré une agrégation de ces cellules gliales et une légère dégénérescence des cellules (**encercelé**) au niveau de la couche de purkinje (**D1**). Dans les mêmes coupes nous avons remarqué une spongieuse et une vacuolisation des neutrophiles avec de multiples zones d'érythrocytes externalisées et une congestion également des vaisseaux sanguins (**D2**).



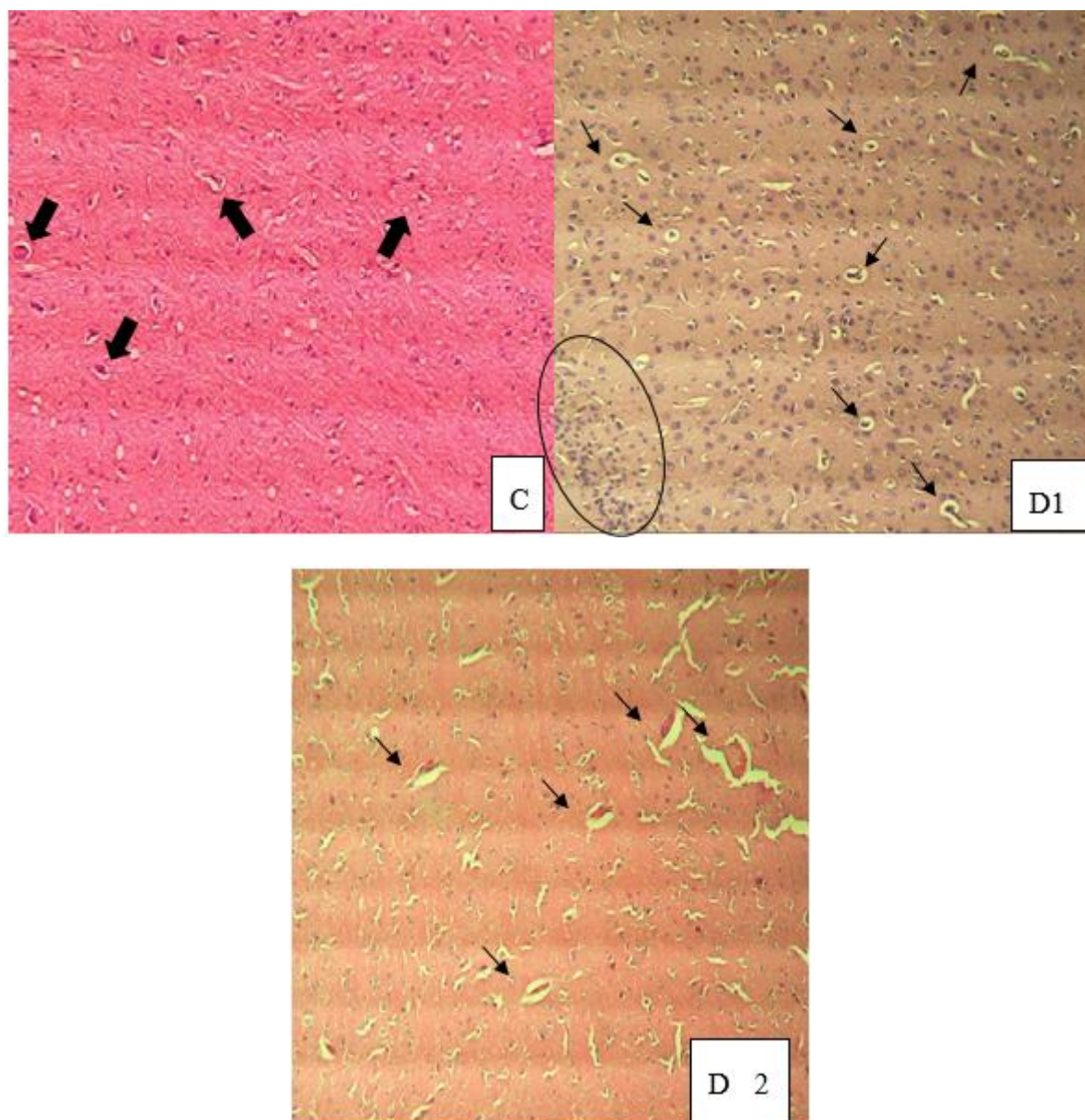


Figure 44. Sections histologiques effectuées sur le cerveau des différents groupes d'animaux traités. (A) Coupe histologique du cerveau des rats CON ; (B) Coupe histologique du cerveau des rats traités par EXT ; (C) Coupe histologique du cerveau du groupe THI +EXT ; (D 1) et (D2) Coupe histologique du cerveau du groupe THI ((H&E) Gr X400).

3. Discussion

Cette présente étude est consacrée en partie à l'évaluation des effets neurotoxiques *in vivo* associés à l'exposition des rats à des doses réelles de THI pendant 3 mois et les effets préventives de l'EXT. Des examens biochimiques et des tests comportementaux ont été abordés pour évaluer l'intégrité cellulaire et mitochondriale de certaines régions du cerveau en l'occurrence le striatum et l'hippocampe.

3.1. Variation mensuelle du poids corporel des rats exposés chroniquement au THI

Nos résultats ont montré une diminution significative ($p < 0.05$) du poids corporel des rats traités par le THI. La réduction de poids corporel constaté est une indication de l'état de la santé des rats, où selon les travaux de **Alarcan et al. (2020)**, ont enregistré un état de santé généralement caractérisé par des désagréments, une chute de cheveux, manque de défécation, et après une semaine, ces mêmes travaux ont montré une diminution de poids corporel chez les lots traités par différentes doses de THI. Par ailleurs, les travaux de **Sheets et al. (2016)** ont abouti à la même conclusion, notamment une diminution du poids corporel des animaux traités par différents néonicotinoïdes (l'imidaclopride, acétamipride, thiaclopride et thiamethoxame avec différentes doses de 50-500 ppm). Une diminution du poids corporel a été constaté après 7 jours de traitement par l'acétamipride à différentes doses (**Terayama et al., 2016**). **EPA 2002** de son côté a rapporté que le gain de poids corporel et la consommation alimentaire ont été réduits chez les rats pendant la première semaine d'exposition à 300 et 500 ppm de THI.

3.2. Estimation du poids relatif du cerveau

Nous avons enregistré une diminution significative ($p < 0.05$) du poids relatif de cerveau chez le groupe THI par rapport au CON. Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par **Gasmi et al. (2016)** qui montrant une diminution de poids de cerveau après le traitement des animaux par 3.14 mg/kg/j d'acétamopride. Or, l'EXT utilisé en préventif a prévenu la variation pondérale par rapport au groupe THI. Il faut noter que la littérature scientifique consultée n'a donné aucune information sur l'effet de cet extrait sur la variation pondérale.

3.3. Evaluation des paramètres comportementaux

La locomotion, évaluée par le test d'open field, est définie par la faculté d'un organisme vivant de se mouvoir pour se déplacer. Dans cette étude, nous avons enregistré une altération de l'activité locomotrice chez les rats traités par le THI par rapport au groupe CON, se traduisant par une diminution de la locomotion qui pourrait être due à l'influence directe de ce néonicotinoïde sur les récepteurs de l'acétylcholine. En effet, selon **Marrs (2012)** l'utilisation d'une dose élevée de THI (109 mg / kg) diminue la locomotion des rongeurs. De plus, les résultats de cette étude sont en accord avec les résultats de l'équipe qui travaille pour **EFSA (2019)**, ont montré une diminution de l'activité motrice chez des rats traités par la dose de 3.1mg/kg poids corporel de THI, ces mêmes résultats ont été également obtenus par les travaux de

Taibi et al. (2020) après l'exposition des rats à une dose de 90 mg/kg d'imidaclopride pendant 28 jours.

Le comportement de type anxiolytique a été évalué à l'aide de test EPM. L'analyse statistique des résultats obtenus par ce test suggère que le THI produit un effet anxiogène en comparaison avec le lot CON, où les rats traités par cet insecticide passent un long temps dans le compartiment sombre par rapport au compartiment éclairé indiquant une anxiété accrue. Selon les travaux de **Rodrigues et al. (2010)**, l'exposition des rats à des doses élevées de thiaméthoxame (50 ou 100 mg / kg de poids corporel) pendant sept jours consécutifs, a montré une augmentation du comportement anxieux. D'autres travaux ont rapporté aussi que les néonicotinoïdes conduisent à la sécrétion accrue des différents neurotransmetteurs comme la sérotonine dans l'hippocampe, ce qui peut produire un effet anxiogène (**Cheeta et al., 2001 ; Tomizawa and Casida, 2005**). De plus les travaux de **Hirano et al. (2015 ; 2018)** ont étudié l'effet de l'administration de la clothianidine (CTD ; 0, 5, 10, 50 et 250 mg / kg / jour) sur le comportement des rongeurs pendant 4 semaines, ont démontré un comportement anxieux très élevé chez les souris. Par ailleurs, l'extrait utilisé en préventif dans cette étude a montré une diminution significative de comportement anxiogène. Il faut noter dans ce contexte que cet effet neuroprotecteur des amandes de noix d'abricot amère a été rapporté par les travaux de **Dajas et al. (2003)** et les travaux de **Vauzour et al. (2008)** qui le justifient par le pouvoir antineurotoxique des flavonoïdes contenus dans ces amandes amères.

Dans cette étude, le test de la nage forcée a montré une incapacité de nager chez les animaux traités par le THI prouve l'effet dépressif de cet insecticide. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par l'étude de **Taibi et al. (2020)** et **Karatas (2009)** ayant montré que l'imidaclopride (IMD) avec différents dose (90 mg/kg, 9g/kg) provoque une légère dépression du système nerveux. Selon l'étude menée par **Taibi et al. (2020)**, l'utilisation de l'IMD peut entraîner des perturbations au niveau du système sérotoninergique. Cela est dû au fait que les récepteurs neuronaux de l'acétylcholine nicotinique (nAChRs), qui font partie de la famille des récepteurs ionotropes, comprennent également les récepteurs de la sérotonine. Cependant, les recherches réalisées par **Guichenez et al. (2006)** ont mis en évidence une association entre les troubles dépressifs et un dysfonctionnement ou une hypoactivité du système sérotoninergique.

NOR est un test classique pour évaluer la mémoire et l'apprentissage spatial en cas des lésions ou des altérations du système neurotransmetteur ou des modèles des maladies cérébrales (**Barker et al., 2011**). L'apprentissage et la mémoire jouent un rôle crucial dans la

communication des êtres humains, et l'altération de l'apprentissage a été mise en évidence par une diminution de l'activité cholinergique dans le cerveau (**Kaoud et al., 2011**). Les résultats de ce test montrent clairement une altération fonctionnelle des différentes régions cérébrales impliquées dans la mémoire déclarative. Cette explication est en concordance avec les travaux de **Okuda et al. (2004)**, qui suggèrent que l'altération de ces régions du cerveau comme étant la cause d'un état d'insuffisance de la mémoire et de l'incapacité d'apprentissage chez les rats traités par cet insecticide. Des données similaires rapportées par **Mondal et al. (2014)**, après une exposition des rats à l'acétamipride (100 mg / kg) pendant 7 jours, vont dans le sens de blocage de la formation de la mémoire à 30% par ce néonicotinoïde. Selon les mêmes auteurs, la présence d'acétamipride dans l'hippocampe peut favoriser l'ouverture des récepteurs ionotropes, ce qui entraîne l'entrée de flux ioniques positifs dans la cellule et peut induire une excito-toxicité. De plus, l'ouverture répétée des récepteurs nAChR entraîne une désensibilisation du récepteur et du canal ionique, empêchant ainsi le passage du calcium (Ca^{2+}) à travers la membrane (**Xiao et al., 2011**). Cependant, les neurotransmetteurs inhibiteurs tels que l'acide γ -aminobutyrique (GABA) et la glycine, libérés au niveau synaptique par les synaptosomes, entrent en compétition avec le glutamate. Dans ce contexte, les déficits d'apprentissage et de mémoire chez la souris ont été attribués à l'impact néfaste sur les interneurons GABAergiques (**Knoferle et al., 2014**). Aussi l'équipe de **Zheng et al. (2020)** montre des altérations histopathologiques, biochimiques et métaboliques induites par l'administration orale répétée de deux doses d'IMI (5 et 20 mg / kg / jour) pendant 28 jours sur l'hippocampe de souris qui contient les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (cible de THI) (**Kenney and Gould, 2008**). Ainsi que les travaux de **Kara et al. (2015)** ont montré que les activités d'apprentissage ont été diminuées significativement à la dose de 8 mg / kg de l'imidaclopride chez les rats adultes traités pendant une période de 3 mois. Or, les groupes EXT et EXT+THI ont montré une augmentation de l'indice de reconnaissance, indiquant ainsi que l'extrait des amandes amères des noix d'abricot est pourvu d'un potentiel préventif à l'égard des troubles de mémoire induits par le THI administré seul. Ces résultats sont justifiés par le fait que l'extrait aqueux des amandes amères d'abricot ont une activité thérapeutique contre la perte de la mémoire appliquée dans la médecine traditionnelle Iranienne en plus de son pouvoir neuroprotecteur contre la mort des neurones (**Vahedi-Mazdabadi et al., 2019 ; Yang et al., 2014**).

L'évaluation de la force musculaire des rats en utilisant le test de kondziela's inverted screen, qui est utilisé comme modèle pour l'évaluation de la fonction motrice et les différents désordres de SNC ou des lésions neuronales en relation avec la force musculaire (**Deacon, 2013**).

L'augmentation de la force musculaire constatée chez les rats traités par le THI par rapport au témoin peut être expliquée par le fait que THI est un agoniste non hydrolysable de l'acétylcholine susceptible de provoquer une activation continue du récepteur de l'acétylcholine, conduisant à des signes de dépolarisation membranaire continue. Sachant que l'acétylcholine estérase est incapable de dégrader les néonicotinoïdes (THI) (**Anadón et al., 2019**), Par conséquent, lorsque le THI se fixe aux récepteurs nicotiques de l'acétylcholine, cela entraîne une accumulation excessive d'acétylcholine. Normalement, l'acétylcholine est dégradée par l'acétylcholinestérase, mais selon les résultats de cette étude le THI entraîne un déficit dans l'activité enzymatique de cette enzyme, justifiant l'accumulation de l'acétylcholine, où des études menées par **Goetz (2011) et Novotny et al. (2011)**, ont montré que la durée de la contraction musculaire est proportionnelle à la concentration de l'acétylcholine. Les travaux de **(EC, 2018)** ont démontré également que la force musculaire des membres a été augmentée chez les rats qui ont reçu de l'acétamipride par gavage avec différentes doses. L'EXT utilisé seul dans cette étude a montré une augmentation significative de la force musculaire par rapport au témoin, ce qui pourrait être expliqué par la différence de poids corporel entre les rats traités par l'extrait et les rats témoins où la prise de poids réduit la force musculaire (**Hirota et al., 2016**).

Le test de balance beam a été réalisé pour évaluer la coordination motrice et l'équilibre (**Brooks and Dunnett, 2009**). Les résultats obtenus en appliquant ce test ont révélé des déficits dans la coordination et l'équilibre chez les rats du groupe THI et EXT+THI pour qui le temps de marche sur la poutre (beam) est prolongé. Ces observations suggèrent que le THI pourrait altérer les neurones dopaminergiques responsables de l'équilibre et du contrôle des mouvements et de la marche (**Sherer et al., 2003**). Par ailleurs, **Abou-Donia et al. (2001)** ont montré que la marche sur le beam nécessite des niveaux pertinents de conscience, de mémoire et de sensorimotrice. Dans une autre étude, les mêmes auteurs (**Abou-Donia et al., 2008**) ont rapporté que ces déficits neurocomportementaux peuvent refléter un dysfonctionnement au niveau de plusieurs zones anatomiques du système nerveux central, du système nerveux périphérique ou des muscles. Dans cette étude, l'EXT diminue le temps de marche sur la poutre en comparaison avec le lot traité par le THI, ces résultats indiquent que cet extrait montre une protection neuronale qui, selon **Moradi et al. (2017)**, pourrait être justifié par la présence de polyphénols et flavonoïdes dans cet extrait.

3.4. Evaluation de gonflement et perméabilité mitochondriale

Les résultats de cette présente étude ont montré que l'exposition des rats au THI a montré une augmentation de la perméabilité et le gonflement mitochondrial à la fois dans l'hippocampe et le striatum. Par ailleurs, l'extrait utilisé dans cette étude a montré une protection significative des pores mitochondriaux ce qui a permis la conservation de l'intégrité membranaire de cette organelle subcellulaire en maintenant ainsi son volume et sa perméabilité membranaire en comparaison avec le témoin. Ces résultats sont en accord avec plusieurs résultats des travaux récents comme ceux de **Gasmi et al. (2016)** ; **Beghoul et al. (2017)** ; **Gasmi et al. (2017)**, qui ont montré une augmentation de gonflement et perméabilité mitochondriale après le traitement des rats pendant 90 jours par 3.14 mg /kg d'acétamipride, 0.32 mg/kg de deltaméthrine et 2.6 mg/kg de bifenthrine.

3.5. Evaluation des paramètres du statut redox mitochondrial dans le striatum et l'hippocampe

Parmi les impacts de l'exposition chronique aux pesticides, on retrouve le stress oxydant, qui conduit à des dommages de biomolécules importantes conduisant à la perturbation fonctionnelle des différents organes (**Wylly and Pedraza-Chaverri, 2014**). Le cerveau est un organe grand consommateur de l'oxygène et donc source des ERON particulièrement dans le cas des neurotoxicités oxydatives pouvant induire des maladies neurodégénératives, comme la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson (**Chen et al., 2010** ; **Wei et al., 2018**). Dans cette étude l'évaluation du statut redox dans les mitochondries de striatum et de l'hippocampe, chez des rats exposés à des micro dose de THI et l'extrait des amandes amères des noix d'abricot pendant 90 jours, a abouti aux résultats ci-après.

Le GSH constitue un antioxydant non enzymatique, il est considéré comme une molécule de la première ligne de défense dans les systèmes antioxydants des neurones (**Pathak and Khandelwal, 2006** ; **Aoun and Tiranti, 2016**). Son action est indiquée par le fait qu'il est co-facteur au sein d'un ensemble d'enzymes antioxydantes telles que les glutathion peroxydases, la glutathion réductase, les thiorédoxines et les peroxyrédoxines. De plus, il possède la capacité de se lier à des xénobiotiques et à divers radicaux libres grâce à son pouvoir chélateur (**Defraigne and Pincemail, 2008**). Les résultats de cette étude ont montré un épuisement de GSH mitochondrial à la fois dans le striatum et l'hippocampe chez les rats traités par le THI. Ces résultats peuvent être expliqués par la conjugaison de GSH avec les déferents radicaux libres résultant de l'exposition chronique au THI. Ces résultats sont en adéquation avec ceux obtenus

dans travaux de **Kebieche et al. (2009)** rapportant une diminution de GSH après l'intoxication à différents xénobiotiques.

Les résultats de cette étude ont montré également une diminution significative de l'activité de la SOD mitochondriale de striatum et d'hippocampe chez les rats exposés au THI en comparaisons avec le lot CON. La SOD, Cette métalloprotéine joue un rôle crucial dans la protection des cellules contre le stress oxydatif. Elle élimine $O_2^{\cdot-}$ par une réaction de dismutation, ce qui permet de le convertir en H_2O_2 et en O_2 . (**Haleng et al., 2007**). La diminution significative de l'activité des enzymes antioxydantes (SOD) pourrait être expliquée par l'élévation des radicaux libres qui épuisent une partie de l'activité de cette enzyme indispensable à leur neutralisation (**Moeen et al., 2018 ; Rouaki and Kanane, 2019 ; Katić et al., 2020**). Ou ces radicaux libres peuvent oxyder les résidus du site actif de la protéine conduisant à la perte de sa fonction et d'activité enzymatique (**Butterfield et al., 1998**), ajouté à cela l'inhibition directe de SOD par le pesticide testé (**Jablonska-Trypuc et al., 2017**).

L'évaluation de l'activité catalasique mitochondriale de striatum et d'hippocampe chez le lot traité par le THI, a montré un déficit significatif dans son activité. Il faut noter que la CAT est une oxydoréductase la plus universelle qui élimine H_2O_2 en O_2 et H_2O (**Qureshi et al., 2007**). Ce déficit est explicable dans la littérature scientifique par l'inhibition de sa synthèse (son turnover cellulaire) ou par les fortes concentrations de H_2O_2 qui pourraient induire son inactivation rapide (**Gutteridge, 1995**).

Les résultats de cette présente étude ont montré une augmentation de l'activité de GST mitochondriale des régions du cerveau étudiées chez les rats traités par le THI en comparaisons avec le témoin. La GST est un facteur crucial pour déterminer la sensibilité des cellules aux différents xénobiotiques, elle offre une protection contre la toxicité cérébrale induite par les pesticides (**Ahmad et al., 2010**). On note que la GST catalyse la conjugaison de GSH avec un large spectre des produits chimiques toxiques (**Silvane et al., 2014**). L'augmentation de l'activité de GST dans cette étude pourrait être due à une carence en GSH ou elle est une réponse adaptative pour lutter contre le stress (**El-Gendy et al., 2010**).

Dans cette étude, la GPx est une sélénoprotéine qui réduit le peroxyde d'hydrogène en présence de GSH, pour donner H_2O . Elle prend en charge aussi les lipides ayant subis une peroxydation (**Comhair and Erzurum, 2002**). Selon les résultats de cette présente étude, nous avons remarqué une diminution de l'activité enzymatique de GPX mitochondriale dans le striatum et dans l'hippocampe par rapport au témoin, la réduction de l'activité de GPX est la conséquence

des taux élevés des ERON, où cette enzyme sert à leur détoxification (**Mamdouh et al., 2007**), selon **Doltade et al. (2019)** l'exposition chronique aux xénobiotiques produit une déplétion de l'activité enzymatique des enzymes antioxydantes.

Les résultats de cette étude ont montré une production excessive du MDA chez le groupe THI dans les mitochondries du striatum et de l'hippocampe, par ailleurs l'extrait utilisé a induit une diminution significative de ce produit au niveau de striatum en comparaison avec le lot témoin. Il est bien connu que l'augmentation de taux du MDA indique la présence d'une peroxydation lipidique causé par les ERON, en l'occurrence °OH, sur les acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires, cette peroxydation conduit à la perforation des biomembrane et la perte de l'équilibre des échanges membranaires et donc de leur fonction (**Favier, 2003**). Des résultats similaires ont été enregistrés par les travaux de **Abd-Elhakim et al. (2018)** après le traitement des rats par 1 mg/kg d'imidaclopride pendant 60 jours, rapportant que les dommages oxydatifs qui en résultent sont la cause principale de la dégénérescence neuronale.

D'une manière générale, l'état de l'art de cette thématique n'apporte pas des données expérimentales sur l'évaluation de l'état redox mitochondrial dans les deux régions étudiées dans le cas de THI. Cependant, quelques travaux sur l'exposition du cerveau total aux néonicotinoïdes ont été rapportés dans la littérature scientifique. En effet, les résultats de **Kapoor et al. (2010)** ont montré les mêmes perturbations de statut redox après le traitement oral des rats par 20 mg/kg de poids corporel d'imidaclopride, aussi **Vesile et Suat (2009)** ont enregistré les mêmes résultats concernant MDA et CAT après le traitement des rats par 10µM d'imidaclopride. De plus les résultats de (**Duzguner and Erdogan, 2012**) ont montré une altération significative des paramètres suivants MDA, GSH et SOD, après le traitement des animaux par l'imidaclopride (1mg/kg pendant 30 jours), ainsi que **Farag et al. (2019)** ont enregistré les mêmes résultats de GSH et SOD après le traitement par l'imidaclopride pendant 90 jours.

Les résultats de cette étude indiquent que le THI a un effet délétère sur l'intégrité cellulaire et moléculaire des cellules du cerveau par la génération des ERON (stress oxydant), le gonflement et la perméabilité mitochondriale, déclenchement de l'apoptose. Or, l'EXT, a montré une cytoprotection cérébrale via l'effet des composés actifs présents dans cet extrait tels que les composés phénoliques qui semblent être des molécules thérapeutiques ayant le pouvoir d'inhiber la formation des ERON (**Okada et al., 2013**). Récemment les travaux de **Qin et al. (2019)** ont abouti à l'évidence suggérant que les polyphénols sont indiqués contre les différentes maladies causées par le stress oxydatif, pour augmenter la capacité de défense antioxydante et réduire la

toxicité et la perte de la masse neuronale. Cette explication pharmacologique est fondée par la richesse des amandes amères des noix d'abricot en éléments antioxydants comme le fer, potassium, amygdaline, flavonoïdes, qui sont susceptibles d'avoir des différentes activités biologiques comme l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et aussi antitumorale ... **Li et al. (2016)**. Cette évidence est soutenue également par les résultats de **Moeen et al. (2018)** qui ont montré que l'EXT est capable de réduire les effets toxiques de pesticides par la réduction des ERON et l'augmentation significative des enzymes antioxydantes comme les activités enzymatiques de la CAT et de la SOD, ces mêmes résultats justifient cette activité biologique par la teneur importante de ces amandes en composés antioxydants comme les tocophérols et les composés phénoliques.

3.6. Acétylcholine estérase (AChE)

AChE est une protéine spécifique des neurones cholinergiques, qui peut jouer un rôle clé dans le maintien des taux d'acétylcholine au niveau des neurones cholinergiques, étant responsable de la dégradation de l'acétylcholine en acétate et choline dans la fente synaptique (**Vohra et al., 2014**). Dans la présente étude, une diminution de l'activité de l'acétylcholine estérase au niveau de striatum et d'hippocampe a été enregistrée chez le groupe THI par rapport au groupe CON. Selon l'étude de **Rodrigues et al. (2010)**, l'exposition au thiaméthoxame a montré une diminution de l'activité d'AChE, mais aucune information fournie concernant le mécanisme d'action de cet insecticide sur cette enzyme, par contre selon cette étude la diminution de l'activité cholinestérasique pourrait refléter une réponse secondaire des neurones à l'insecticide, sachant que les néonicotinoïdes ou leurs métabolites pourraient agir sur les nAChRs centraux du rat, produisant un déséquilibre dans le schéma de neurotransmission cholinergique. De plus les travaux de **Katić et al. (2020)** ont montré une inhibition de l'activité d'AChE après le traitement des rats par 0.06 et 0.8 mg/kg de poids corporel/jour d'imidaclopride pendant 28 jours, d'autres résultats obtenus par **Topal et al. (2017)** lors d'un traitement des animaux par l'imidaclopride au niveau des différentes régions cérébrales vont toujours dans le sens de la réduction de l'activité de cette neuroenzyme. D'autre part les résultats de **Vanzour (2008) et Dajas (2003)**, ont montré que les amandes amères des noix d'abricot amère ont un effet général neuroprotecteur grâce à leur richesse en flavonoïdes et en polyphénols, ceci pourrait justifier le pouvoir neurocytoprotecteur de l'extrait utilisé dans cette présence étude.

3.7. Dosage des marqueurs apoptotique dans le striatum et l'hippocampe

Selon la littérature, la perte de la perméabilité mitochondriale est à l'origine de la libération de cyt-c et Ca^{++} dans le cytosol permettant de déclencher la première étape de l'apoptose cellulaire en s'associant aux réactions de la maturation de la caspase-9, ce processus est nécessaire pour déclencher l'apoptose (Gasmi et al., 2017 ; Chouit et al., 2020). En effet, les résultats de cette étude ont montré une augmentation des activités des caspase-3 et 9, et des taux de Ca^{++} , cyt-c et de Bax cytosoliques dans le groupe traité par le THI. Tous ces marqueurs indiquent que l'insecticide utilisé peut déclencher une voie de signalisation de l'apoptose intrinsèque (Toualbia et al., 2017 ; Saranya et al., 2020). Cet effet proapoptotique de THI a été soutenu par une baisse significative de la teneur intracellulaire de Bcl2, qui est considérée comme un membre potentiel de la famille des facteurs anti-apoptotiques. Ainsi, les résultats de cette étude ont exploré les altérations de la membrane mitochondriale primaire sous forme d'œdème et de troubles de perméabilité membranaire permettant la libération de protéines proapoptotiques de l'espace intermembranaire mitochondrial comme le cyt-c qui participe à la maturation de la caspase-9 et ensuite la caspase-3. Cette action proapoptotique associe également le facteur d'activation de la peptidase apoptotique (Apf1) conduisant à la formation d'apoptosomes tant cytosolique que nucléaire (Prieto-Moure et al., 2016 ; Shakeri et al., 2017).

3.8. Etude histologique de cerveau

L'observation histopathologique des sections du cerveau total a révélé que l'exposition chronique des animaux au THI entraînait une dégénérescence et une vacuolisation des cellules neuronales et gliales avec congestion des vaisseaux sanguins dans le neuropile du cerveau. Ces résultats sont en accord avec les conclusions de Abd-Elhakim et al. (2018), qui ont rapporté une dégénérescence sévère des neurones et des cellules gliales avec vacuolisation dans le neuropile de l'hippocampe des rats traités par 1mg/kg d'imidaclopride pendant 60 jours. Des résultats similaires ont été rapportés par Vivek et Jain (2020) après exposition des rats aux différentes doses de THI pendant 28 jours. On remarque que ces observations histologiques sont en accord avec la présente étude montrant l'effet apoptotique du THI, alors que le traitement des animaux avec l'EXT à 50 mg/kg/jour en association avec THI a prévenu l'architecture normale et la structure du cerveau, ces résultats démontrent largement que cet extrait a un potentiel neuro-protecteur contre les altérations tissulaires dues à la neurotoxicité de THI.

- **Conclusion :**

- L'évaluation de la neurotoxicité de THI suite à une exposition chronique des rats adulte a montré une diminution de prise du poids et une diminution de poids relatif de cerveau.
- L'évaluation des fonctions cognitives en utilisant des différents tests de comportement a montré une diminution de la locomotion, une anxiété accrue, une dépression, une perte de mémoire et d'apprentissage, une altération de la force musculaire, perte de l'équilibre et la coordination des rats exposés au THI.
- Le THI a induit un stress oxydant et une peroxydation lipidique accrue dans les mitochondries donnant leur gonflement et une perte de leur perméabilité membranaire dans les cellules striatales et hippocampales.
- Le THI a induit également une activation caspasique de l'apoptose parallèlement à une perte de la fonction cholinergique au niveau de ces deux régions du cerveau.
- L'observation histologique a montré une dégénérescence des différentes cellules, des hémorragies et congestion tissulaire, ainsi qu'une agrégation des cellules gliales.
- L'association de l'EXT avec THI a permis d'enregistrer une protection cognitive et une prévention contre toutes les pertes de l'intégrité structurale et fonctionnelle des mitochondries et des cellules striatales et hippocampales.

Chapitre 3

Effet neurotoxique de THI sur la génération G1 des rats et bioactivité de l'extrait hydroalcoolique de *P.* *armeniaca* L.

3. Effet neurotoxique de THI sur la génération G1 des rats après une exposition gestationnelle et lactationnelle et bioactivité de l'extrait hydroalcoolique des amandes amère d'abricot *P. armeniaca* L.

1. Matériel et méthodes

1.1. Entretien des animaux

Les rats femelles et males ont été fournis par Institut Pasteur d'Alger (Algérie), et hébergés à l'arrivée dans l'animalerie de l'université de Batna 2. Les rats femelles (n=16) pesant environ 180 g à l'âge de 8 semaines et les mâles (n=8) à l'âge de 12 semaines. Les rats ont été hébergés dans des cages plastiques à une température (23 ± 2 °C) et une humidité relative (60%) avec un cycle photopériodique de 12 h, et recevaient de la nourriture et de l'eau librement. Après une période d'adaptation de 15 jours, deux femelles ont été accouplées avec un mâle par nuit. Le matin suivant, un frottis vaginal a été observé au microscope pour confirmer la gestation. La date de la parturition de chaque mère a été désignée comme le jour 0 de gestation. Les rates gestantes ont été réparties au hasard en quatre groupes de traitement (n=4/groupe) comme suit ;

Lot **CON** : est le groupe de rates contrôle qui reçoit l'eau distillée durant les périodes de gestation et de lactation.

Lot **THI** : le groupe de rates traité avec 0.020 mg/kg de THI durant les périodes de gestation et de lactation.

Lot **EXT** : groupe de rates traité avec 50 mg/kg d'extrait hydroalcoolique des amandes amères des noix d'abricot, *Prunus armeniaca* L. durant les périodes de gestation et de lactation.

Lot **THI+EXT** : groupe de rates traité avec l'extrait (50mg/kg/jour) et le THI (0.020 mg/kg/jour) pendant les périodes de gestation et de lactation.

1.1.1. Génération G1

Pour la génération 1, 24 males et 24 femelles ont été utilisés pour l'évaluation de la neurotoxicité de THI et l'effet préventif de l'extrait des amandes amères des noix d'abricot, sachant que cette génération a été exposée passivement au THI et l'EXT via la gestation et la lactation. Au 100^{ème} jour, les rats de la G1 ont été soumis d'abord à une batterie de tests comportementaux et ensuite sacrifiés pour les autres analyses biochimiques et histologiques. Dans ce chapitre 3, les mêmes méthodes d'approche et d'investigation utilisées en chapitre 2

ont été réappliquées selon leurs principes et objectifs prévus (p85-96). Cette méthodologie est résumée comme suit.

1.2. Mesure de poids corporel

1.3. Les tests de comportements

1.4. Estimation des du poids relatif du cerveau

1.5. Préparation de la matrice mitochondriale de striatum et l'hippocampe

1.5.1. Evaluation du gonflement et perméabilité mitochondriale

1.5.2. Dosage des paramètres de stress

1.6. Préparation de la fraction cytosolique

1.6.1. Mesure de l'activité enzymatique de l'acétylcholine estérase

1.7. Dosage des paramètres apoptotique dans le striatum et l'hippocampe

1.7.1. Préparation des lysats tissulaires

1.7.1.1. Cytochrome c

1.7.1.2. Dosage de calcium cytosolique

1.8. Histologie

1.9. Analyse statistique

2. Résultats

2.1. La variation pondérale des animaux traités

La variation du poids corporel, chez les rats de la G1 exposés passivement au THI (G1THI) et à EXT (G1EXT) durant la gestation et la lactation, est récapitulée dans le (**tableau 14**). Ces résultats ne montrent aucune variation significative ($p > 0.05$) du poids corporel des différents groupes des rats en comparaison avec le groupe CON (G1CON) et le groupe G1THI.

Tableau 14. Les variations du poids corporel des rats de G1 exposés passivement durant la gestation et la lactation au THI et l'EXT

	Groupes	A la naissance	PND 21	PND100
	CON	1.12 ± 0.01	8.30 ± 1.30	150.15 ± 2.30
Mâles	THI	1.24± 0.02 ns	9.15± 1.11 ns	165.30± 2.11 ns
	EXT	1.30± 0.01ns	9.39± 1.12 ns	151.34 ± 1.95ns
	EXT+THI	1.18± 0.04ns	10.12± 1.48 ns	163.16 ± 1.67 ns
	CON	1.25± 0.05	7.20± 1.30	180.18± 1.12
Femelles	THI	1.30 ± 0.01ns	8.34 ± 1.09 ns	176.22 ± 2.05 ns
	EXT	1.18 ± 0.01 ns	9.11± 1.25 ns	175.17± 2.11 ns
	EXT+THI	1.19± 0.04ns	9.45 ± 1.18 ns	183.29 ± 1.87 ns

2.2. Évaluation des changements comportementaux et cognitifs

2.2.1. Évaluation de la locomotion des rats par le test OF

Le test OF a été utilisé pour analyser l'activité motrice de la progéniture adulte (reflétée par la distance totale parcourue). Ce test a montré une diminution significative ($p < 0.05$) de la distance totale parcourue (ambulation) et le rearing chez les mâles et les femelles des rats de G1 traités passivement par le THI par rapport au groupe G1CON. Or, il y a eu une augmentation significative ($p < 0.05$) de la distance parcourue par les mâles et les femelles de G1 traités passivement par EXT par rapport au groupe G1THI (**figure 47**).

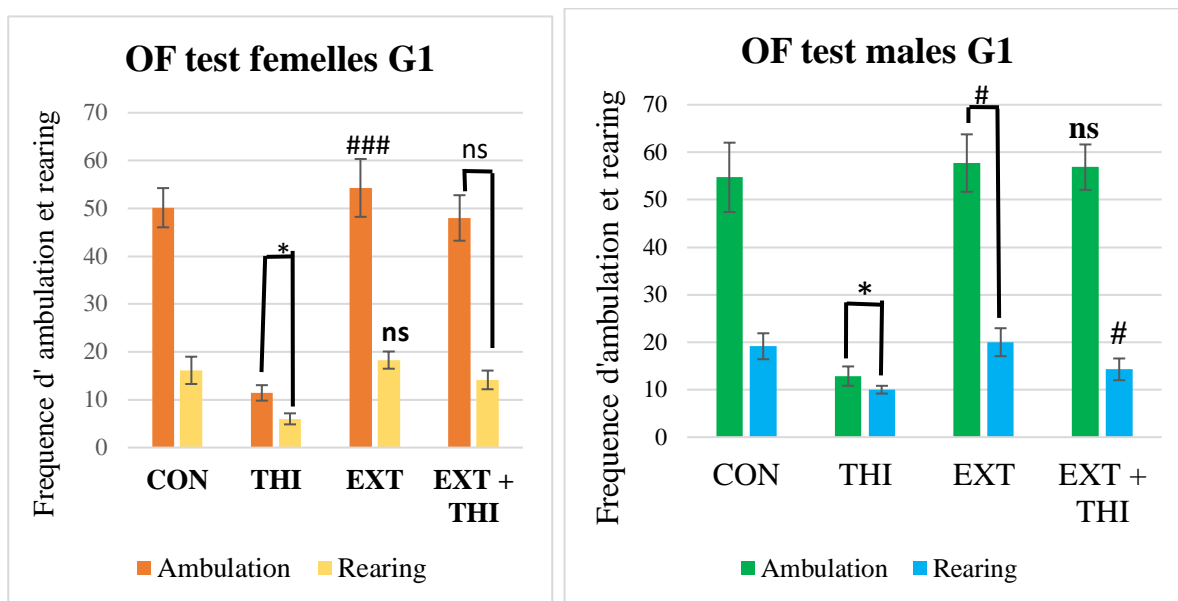


Figure 45. La variation de l'activité locomotrice horizontale (ambulation) et verticale (rearing) chez les différents rats traités mâles et femelles exposés passivement durant la gestation et la lactation.

2.2.2. Evaluation de l'anxiété des rats par le test EPM

Dans ce test les femelles de G1 du groupe traité par le THI (G1THI) ont passé une longue temps dans les bras fermés que les mâles par rapport au groupe CON (G1CON), et les femelles de G1 du groupe traité par l'EXT (G1EXT) ont passé plus de temps dans les bras ouverts que les mâles par rapport au groupe de G1THI. De plus, une diminution significative ($p < 0.05$) du nombre d'entrées dans les bras ouverts et fermés du groupe G1THI par rapport au groupe G1CON, mais les mâles et les femelles de G1 traités par l'EXT (G1EXT) ont fait plus de nombre d'entrées dans les bras ouverts et fermés par rapport au groupe G1THI (tableau 15).

Tableau 15. . Les variations de temps passé par les rats et le nombre de leurs entrées dans les bras sombre ou éclairée des différents groupes de la génération 1 mâles et femelles.

	Le temps passé dans le bras sombre en %		Le temps passé dans le bras éclairé en %		Nombre d'entrées dans les bras éclairée et sombre	
	Femelles G1	Mâles G1	Femelles G1	Mâles G1	FemellesG1	Mâles G1
CON	6.71± 1.11	16.57±1.72	93.29±1.11	83.43±1.72	14.71±2.69	15.57±2.82
THI	92.00±4.40**	92.71±4.68*	8.29±4.15**	5.00±4.68*	1.57±0.53**	2.29±0.76**
EXT	17.57±1.27##	19.86±1.35#	82.43±1.27##	80.14±1.35#	14.57±2.70#	15.29±2.36#
THI+EXT	29.57±1.90#	21.71±1.38#	70.43±1.90#	83.00±1.38#	13.00±2.52 ns	14.57±2.82#

2.2.3. Evaluation de la dépression par le test de la nage forcée

L'analyse statistique a présenté une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) et significative ($p < 0.05$) de temps d'immobilité (TIM) respectivement chez les rats femelles et mâles de G1 traités par le THI (G1THI) par rapport à celui des rats CON (G1CON), Cependant, les résultats de cette présente étude ont montré que les rats mâles et femelles traités passivement par l'EXT et EXT + THI montrent une diminution significative ($p < 0.05$) de temps d'immobilité par rapport au groupe THI (**figure 48**).

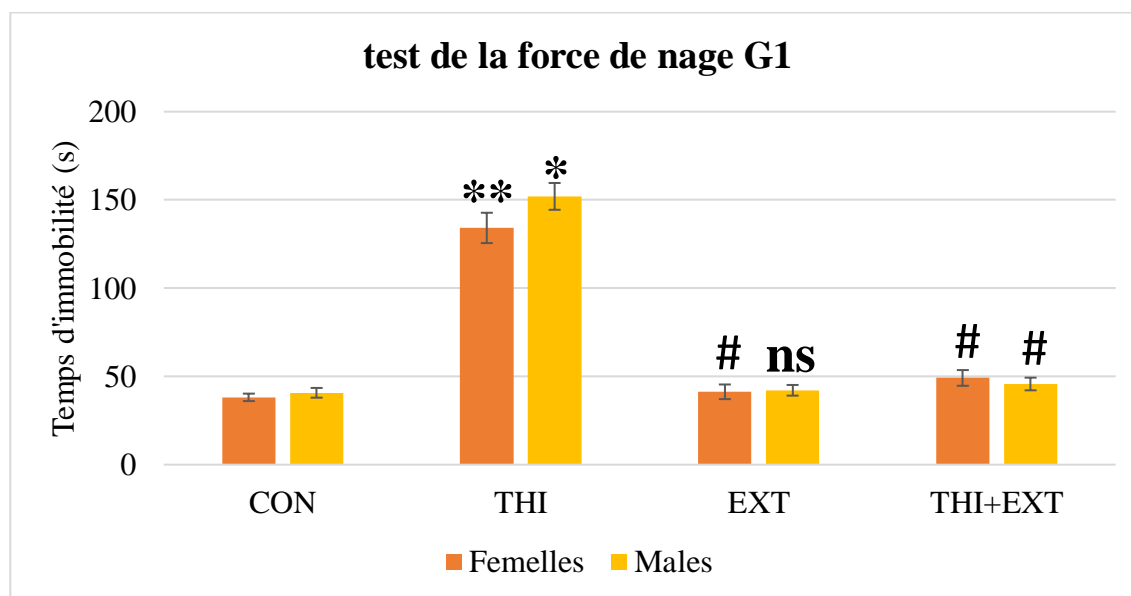


Figure 46. Evaluation du niveau de dépression des rats mâles et femelles de G1 exposés durant la gestation et la lactation au THI et l'extrait, THI + extrait en utilisant le test de la force de nage.

2.2.4. Test de Novel Object Recognition (NOR)

L'indice de reconnaissance du nouvel objet a montré une diminution significative ($p < 0.05$) chez les mâles et les femelles G1THI par rapport au groupe G1CON, cet indice de reconnaissance a été amélioré chez les groupes G1EXT et G1EXT+THI par rapport au groupe G1THI (figure 49).

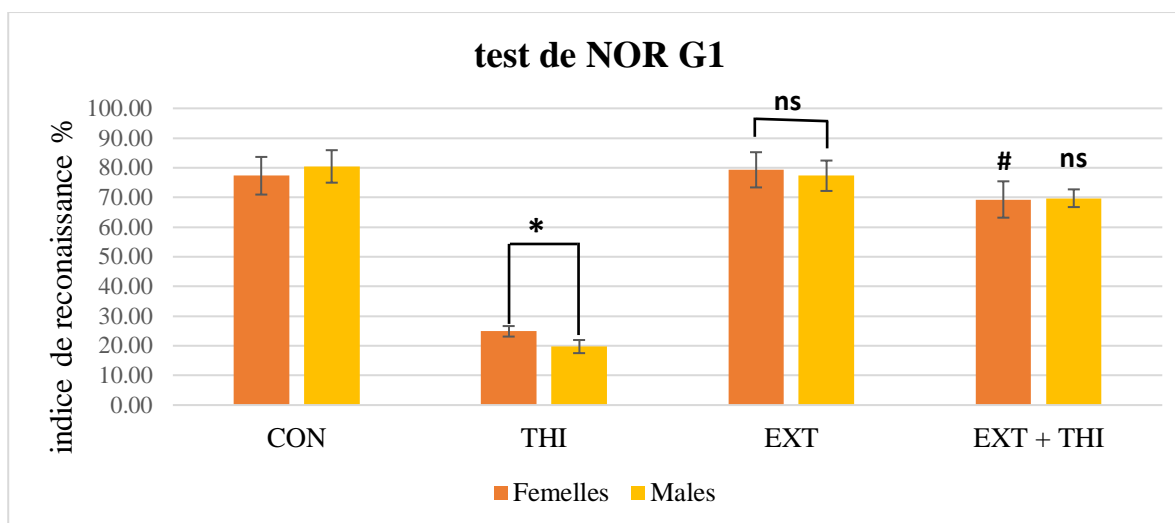


Figure 49. Evaluation de la mémoire et l'apprentissage des différents groupes des rats mâles et femelles de G1 en utilisant le test NOR.

2.2.5. Test de Kondziela's Inverted Screen (KIS)

Selon les résultats du test KIS, le temps de fixation des rats à l'écran inversé a enregistré une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) chez les rats de G1THI par rapport au groupe G1CON, d'autre part une diminution très hautement significative ($p < 0.01$) du temps de fixation à l'écran inversé enregistré chez le groupe G1EXT par rapport au groupe G1THI (figure 50).

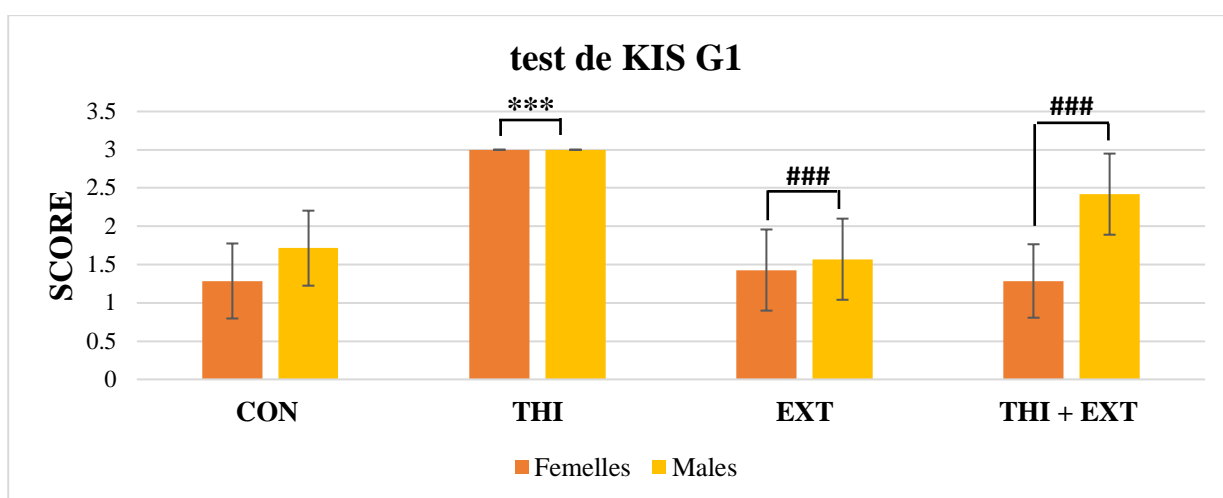


Figure 47. Evaluation de la force musculaire des rats mâles et femelles des différents groupes G1 exposés passivement aux différents traitements durant la gestation et la lactation en utilisant le test KIS.

2.2.6. L'évaluation de l'équilibre par balance beam

Les résultats de cette présente étude montrent une diminution significative ($p < 0.05$) de temps de marche sur la poutre (beam) de 4cm et de 2cm chez les rats femelles et mâles G1THI en comparaison avec le groupe G1CON, tandis que les rats mâles ou femelles du groupe G1EXT et G1EXT+THI montrent une augmentation de temps de marche sur la poutre (beam) de 4cm pour les mâles et de 2cm pour les femelles par rapport au groupe G1THI (figure 51).

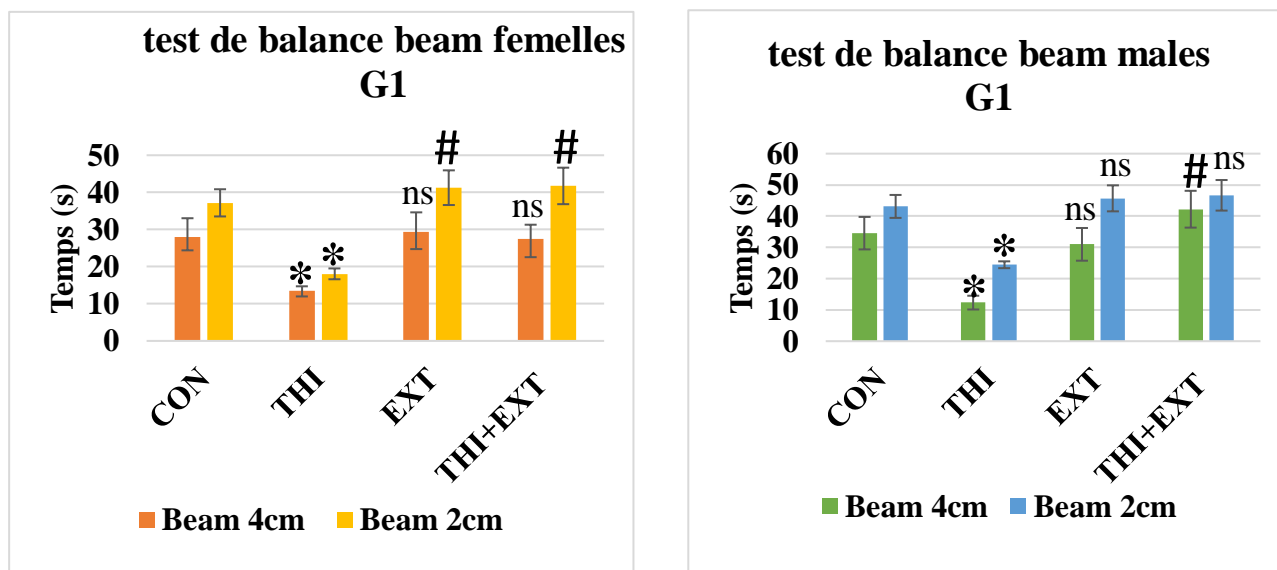


Figure 48. Evaluation de l'équilibre et la coordination des rats mâles et femelles de G1 exposés durant la gestation et la lactation aux différents traitements en utilisant le test de balance beam.

2.3. Estimation du poids relatifs du cerveau

Les résultats de cette présente étude ne montrent aucune variation significative du poids relatif du cerveau des rats de G1THI, G1EXT et G1EXT+THI. Ces résultats sont récapitulés dans le **Tableau 16**.

Tableau 16. La variation de poids relatif des cerveaux des différents groupes de rats de G1 traités passivement pendant la gestation et lactation

groupes		Poids relatif (g)
Mâles	CON	0.51 ± 0.03
	THI	0.56 ± 0.02 ns
	EXT	0.50 ± 0.05 ns
	EXT+THI	0.062 ± 0.05 ns
	CON	0.048 ± 0.04

Femelles	THI	0.49 ± 0.02 ns
	EXT	0.044 ± 0.05 ns
	EXT+THI	0.052 ± 0.03 ns

2.4. Evaluation du gonflement et perméabilité mitochondriale

Dans cette étude, nous avons enregistré une augmentation du gonflement mitochondrial de striatum et l'hippocampe des rats femelles de G1THI en comparaison avec le groupe G1CON d'une part, d'autre part le lot G1EXT a montré le maintien du volume normal des mitochondries d'une manière hautement significative ($p < 0.01$) par rapport au G1THI. Par ailleurs, pour les mâles de G1, ces résultats ont montré un gonflement hautement significatif ($p < 0.01$) et significatifs ($p < 0.05$) respectivement dans les mitochondries de l'hippocampe et le striatum des rats G1THI par rapport le groupe G1CON, alors qu'il a eu protection significative des mitochondries du striatum et de l'hippocampe chez les groupes G1'EXT et G1EXT+ THI par rapport au groupe G1THI (figure 52).

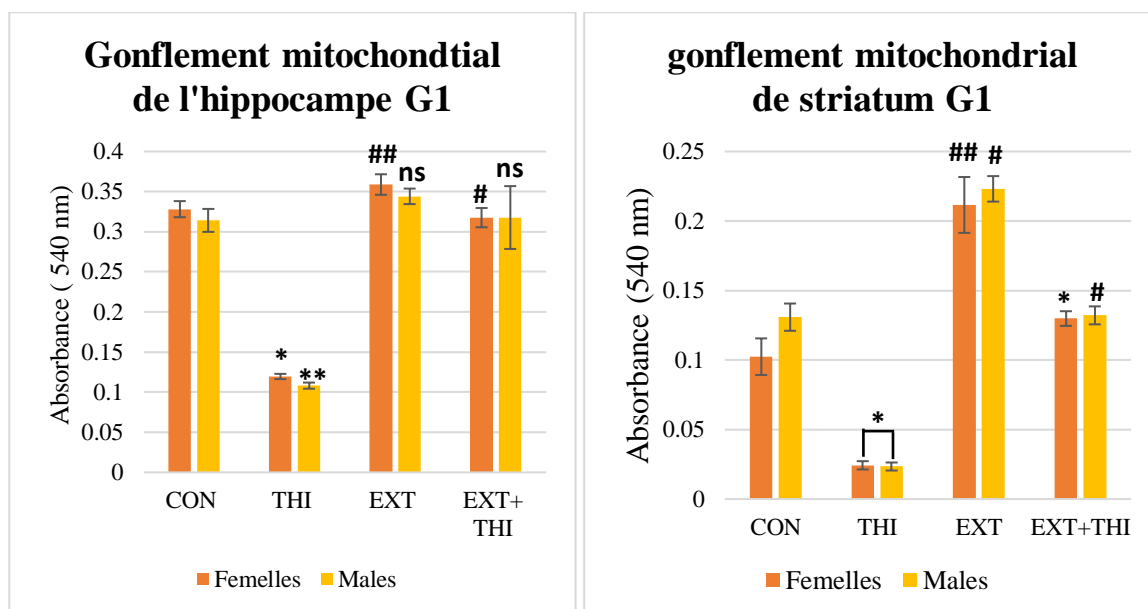


Figure 49. Variation du gonflement mitochondrial de striatum et d'hippocampe des rats mâles et femelles de G1 exposés passivement durant la gestation et la lactation au différents traitements.

Concernant la perméabilité, les résultats de cette étude ont montré une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de la perméabilité mitochondriale de striatum et l'hippocampe chez les rats mâles et femelles de G1THI en comparaison avec le lot G1CON, les lots G1EXT et G1EXT+THI ont montré une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de la perméabilité mitochondriale dans le striatum et l'hippocampe par rapport au G1THI (**tableau 17**).

Tableau 17. Variation de la perméabilité mitochondriale de striatum et l'hippocampe des rats mâles et femelles de G1 exposés passivement durant la gestation et la lactation aux différents traitements.

Perméabilité mitochondriale ($\Delta OD/\Delta t$) G1		
	femelles	Mâles
CON	Str 0.0006 ± 0.0002 Hipp 0.0005 ± 0.0001	Str 0.0005 ± 0.0003 Hipp 0.0005 ± 0.0001
THI	Str 0.004 ± 0.001 ** Hipp 0.003 ± 0.001 **	Str 0.005 ± 0.001 * Hipp 0.005 ± 0.002 **
EXT	Str 0.0006 ± 0.0002 ## Hipp 0.0004 ± 0.0001 ##	Str 0.0005 ± 0.0001 # Hipp 0.0005 ± 0.0001 ##
THI + EXT	Str 0.0008 ± 0.0003 # # Hipp 0.0005 ± 0.0001 # #	Str 0.0009 ± 0.0003 ns Hipp 0.0006 ± 0.0002 ##

Hipp: hippocampe, *Str*: striatum

2.5. Stress oxydatif (tableau 18)

Pour les rats mâles et femelles de G1THI, nous avons enregistré une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité enzymatique de CAT et SOD et du taux de MDA dans le striatum et l'hippocampe. Or, le taux de GSH et l'activité de GST ont diminué significativement ($p < 0.05$) dans les deux régions étudiées par rapport au groupe G1CON.

L'évaluation du statut redox mitochondrial dans le striatum et l'hippocampe a montré que chez les groupes G1EXT et G1EXT+THI il y a eu diminution hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité catalasique. L'activité de la SOD et le taux de MDA ont été diminués significativement ($p < 0.05$) dans le striatum et hautement significativement ($p < 0.01$) dans l'hippocampe de les groupes G1EXT et G1EXT+THI par rapport au G1THI. Par ailleurs, l'activité de GST et le niveau de GSH chez les mêmes groupes, ont été augmentés d'une façon significative ($p < 0.05$) dans les deux régions en comparaison avec le lot G1THI.

Tableau 18. . Variation de mitGSH, mitMDA, mitGPx, mitGST, mitSOD, et mitCAT dans les mitochondries de l'hippocampe et le striatum chez les rats mâles et femelles de G1 exposés passivement durant la gestation et la lactation aux différents

		CON		THI		EXT		EXT+THI	
		Femelles	Males	Femelles	Males	Femelles	Males	Femelles	Males
SOD (UI/mg de protéines)	str	22.42 ±0.72	30.06±0.62	66.75±2.15 *	62.24±3.60 *	23.27±0.93#	28.50±0.85#	27.89±1.15ns	31.13±0.81#
	hipp	0.01±0.001	0.01±0.001	0.10±0.02**	0.12±0.02**	0.01±0.002##	0.01±0.001##	0.02±0.001*	0.01±0.001##
CAT (UI/mg de protéines)	str	0.01±0.002	0.01±0.001	0.16±0.02**	0.17±0.02**	0.01±0.001##	0.01±0.001##	0.01±0.005#	0.01±0.001##
	hipp	0.01±0.001	0.01±0.001	0.10±0.02**	0.12±0.02**	0.01±0.002##	0.01±0.001##	0.02±0.001*	0.01±0.001##

GST (UI/mg de protéines)		GSH (mmol/mg de protéines)		MDA (nmol/mg de protéines)			
hipp	str	hipp	str	hipp	str	hipp	str
29.38±2.50	24.14±1.59	0.47±0.06	0.28±0.03	0.64±0.05	0.65±0.03	24.54±1.63	
27.38±2.41	26.11±1.74	0.51±0.04	0.27±0.04	0.62±0.05	0.58±0.04	33.13±0.53	
8.94±0.54*	7.79±0.46*	0.09±0.01*	0.05±0.01*	1.58±0.27**	1.36±0.18**	69.22±6.69*	
8.04±0.52*	8.14±0.50*	0.10±0.01*	0.05±0.01*	1.58±0.27**	1.35±0.22**	72.98±3.64**	
25.94±2.65##	22.79±1.10ns	0.43±0.05###	0.29±0.02#	0.68±0.04##	0.51±0.05#	22.09±0.58##	
24.46±1.59#	25.22±1.51#	0.48±0.05#	0.29±0.03#	0.56±0.03##	0.57±0.04#	31.06±0.83##	
24.11±2.15#	22.26±1.28ns	0.33±0.05#	0.27±0.04##	0.69±0.06#	0.68±0.04#	34.33±0.61*##	
26.99±2.08#	25.55±1.51 ns	0.39±0.04#	0.25±0.03#	0.71±0.03##	0.61±0.04##	34.66±0.43##	

Hipp: hippocampe, *Str*: striatum

2.6. Evaluation de l'activité de l'AChE

Les résultats de cette présente étude montrent une diminution significative ($p < 0.05$) et hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité enzymatique d'AChE dans le tissu striatal et hippocampal respectivement chez les rats mâles et femelles de G1THI en comparaison avec le lot G1CON, cette activité a été augmenté de façon significative ($p < 0.05$) chez les rats de G1EXT et G1EXT+THI dans les deux tissus par rapport au G1THI (figure 53).

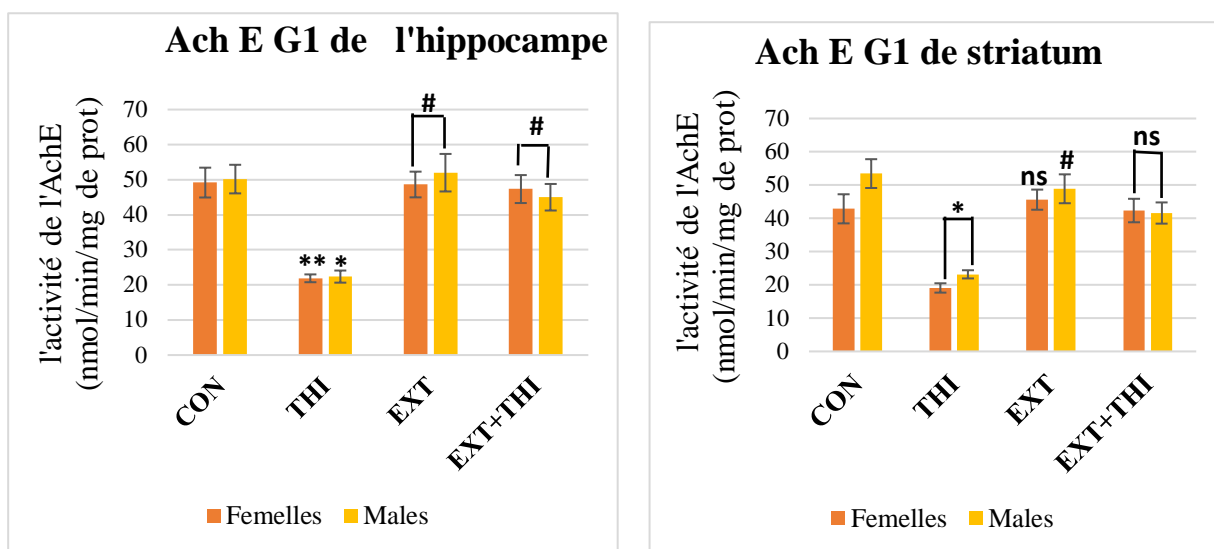


Figure 50. Variation de l'activité enzymatique de l'AChE des rats mâles et femelles de G1 exposés passivement durant la gestation et la lactation aux différents traitements.

2.7. Cytochrome c

La concentration de cytochrome c cytosolique présente une augmentation significative ($p < 0.05$) dans le striatum des rats mâles et femelles chez le groupe G1THI en comparaison avec le lot G1CON, cette concentration a diminué chez les rats mâles des lots G1EXT et G1EXT+THI par rapport au lot G1THI. Or, l'évaluation de ce complexe de la chaîne respiratoire a montré une augmentation significative ($p < 0.05$) et très hautement significative ($p < 0.001$) dans l'hippocampe des rats femelles et mâles respectivement chez le lot G1THI en comparaison avec le lot G1CON.

Chez les groupes femelles G1EXT+THI le niveau de Cyt-c a diminué d'une manière hautement significative ($p < 0.01$) par rapport au G1THI femelle, alors que chez les groupes mâles G1EXT

et G1EXT+THI, ce complex mitochondrial a diminué dans le cytosol d'une manière très hautement significative ($p < 0.001$) en comparaison avec G1THI mâle, (**figure 54**).

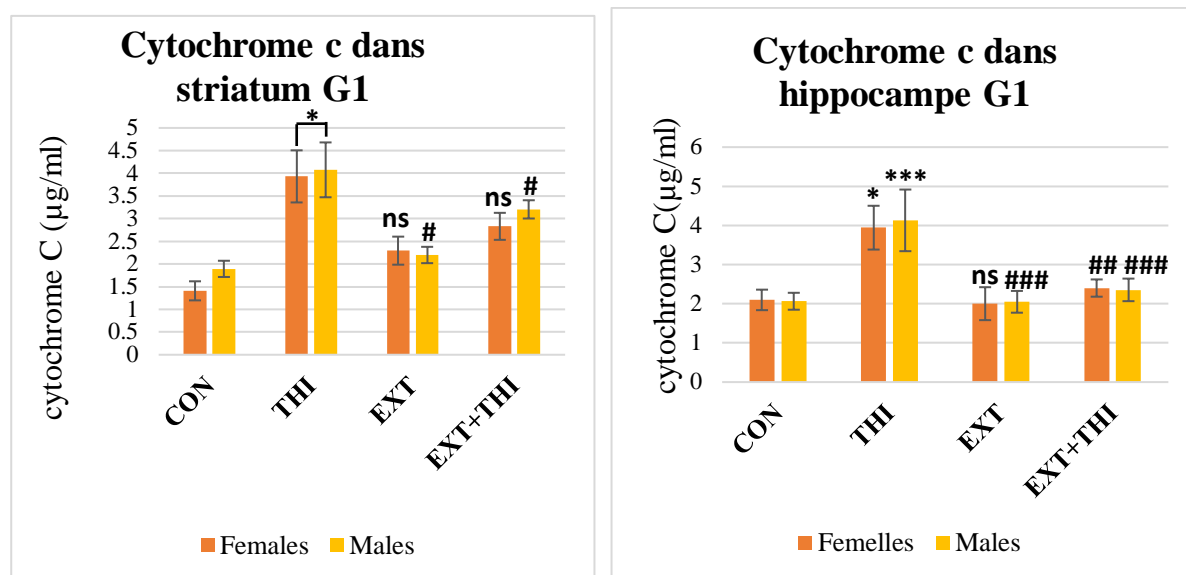


Figure 51. Variation de taux de cytochrome c dans le striatum et l'hippocampe des rats mâles et femelles de G1 exposés passivement durant la gestation et la lactation aux différents traitements.

2.8. Ca⁺⁺

La concentration cytosolique de calcium au niveau de striatum et l'hippocampe montre une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) chez G1THI des deux sexes par rapport au groupe G1CON. Or, les rats de G1EXT et G1EXT+THI mâle et femelle ont enregistré une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de ce paramètre dans les deux régions du cerveau en comparaison avec le lot G1THI (**figure 55**).

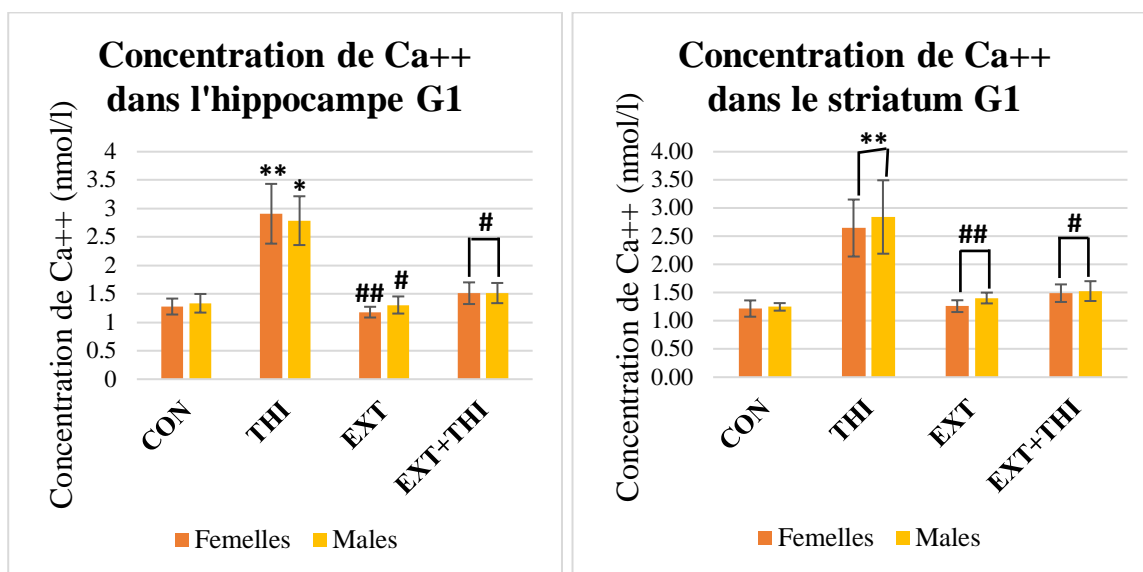
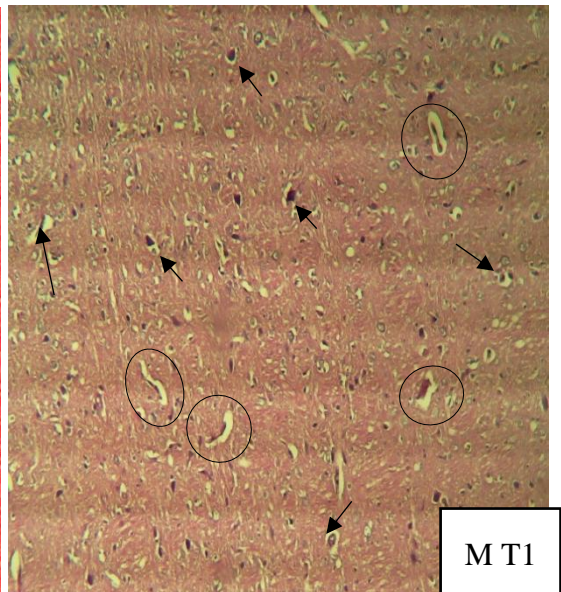
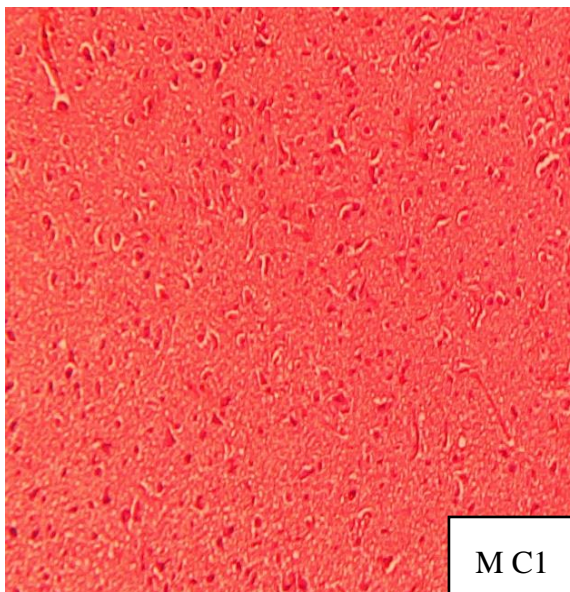
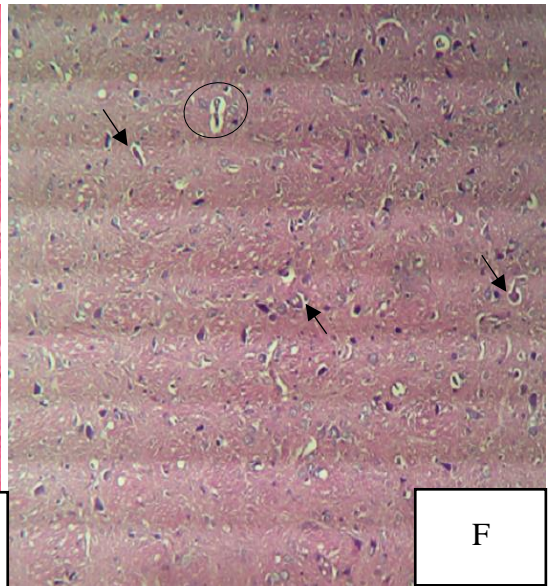
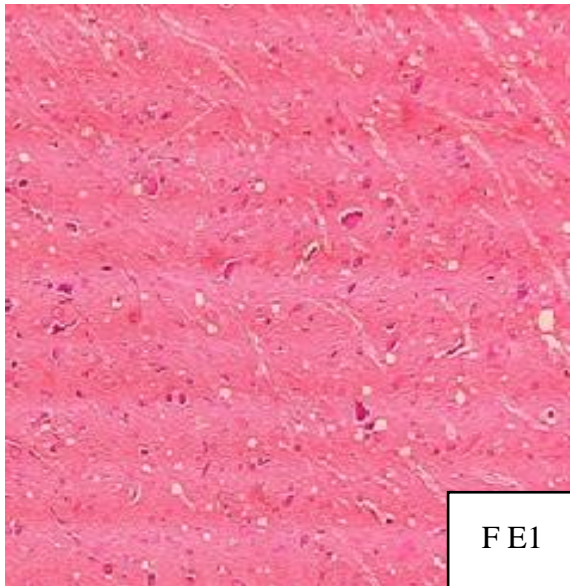
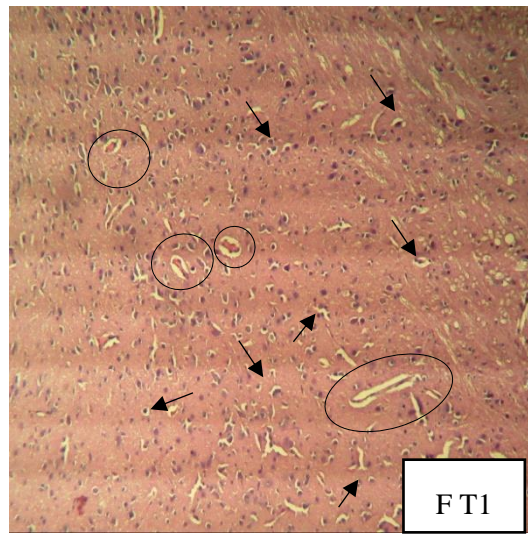
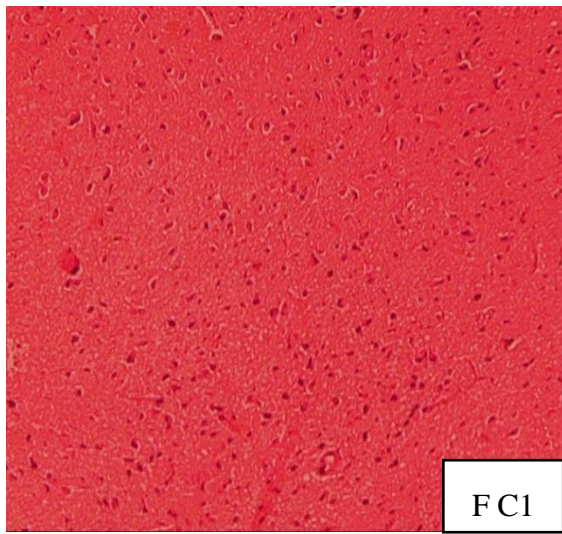


Figure 52. Variation de taux de calcium cytosolique dans le striatum et l'hippocampe des rats mâles et femelles de G1 exposés passivement durant la gestation et la lactation aux différents traitements.

2.9. Examen histopathologique du cerveau de G1

Les images des sections histologiques du cerveau des rats des différents groupes de rats traités sont présentées dans la **Figure 56**.

Les sections examinées du cerveau du groupe G1CON et les rats G1EXT ont montré une structure normale des neurones et des couches granulaires, alors que les sections du cerveau des rats G1THI ont montré des hémorragie périvasculaire (**encerclé**) et dégénérescence des neurones accompagnée des érythrocytes extravasés (**flèche**), de plus des lésions modérées et congestion des vaisseaux sanguins. En outre, le cerveau des rats G1THI+EXT présente une architecture normale et une structure similaire à celle de G1CON avec une dégénérescence neuronale modérée.



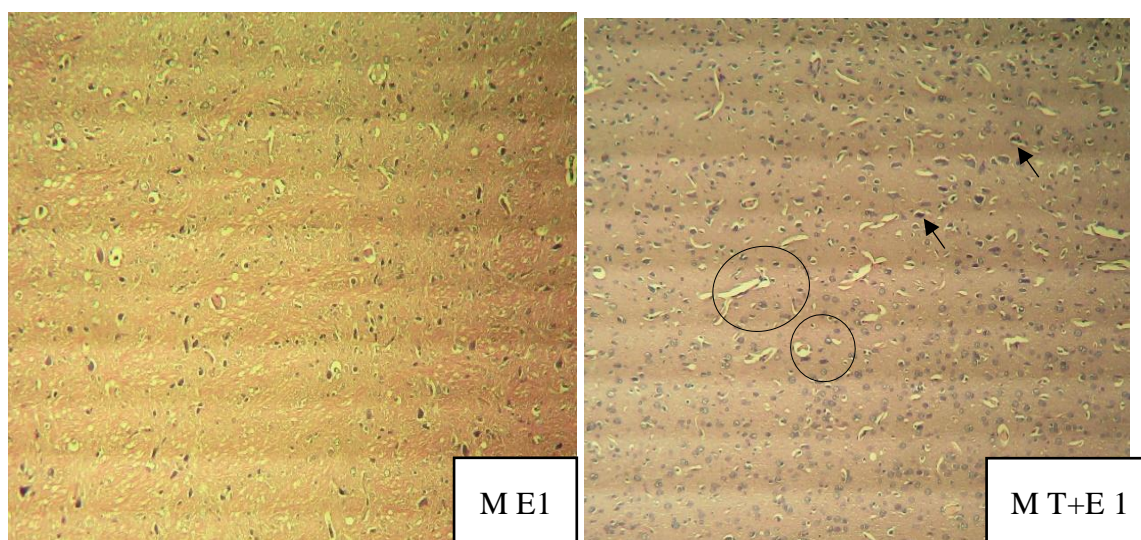


Figure 53. Sections histologiques du cerveau des rats des mâles (M) et femelles (F) de G1(1) exposés passivement durant la gestation et la lactation aux différents traitements ((H&E) Gr X 400).

(C) coupe histologique du cerveau des rats **G1CON** ; (E) coupe histologique du cerveau des rats **G1EXT** ; (T) coupe histologique du cerveau des rats **G1THI** ; (T + E) coupe histologique du cerveau des rats **G1EXT+THI**.

3. Discussion

L'exposition humaine prénatale et post-natale aux polluants environnementaux (pesticides) peut être associée à des effets tératogéniques et diverses maladies à l'âge adulte (**Gomez et al., 2020**). Le THI est l'un des néonicotinoïdes les plus utilisés dans le monde, il agit comme agonistes des nAChRs comme la nicotine elle-même, donc il peut avoir des effets neurotoxiques sur les descendances des rats (**Kammoun et al., 2019**). Dans cette partie de notre thèse, nous avons évalué des paramètres neurocomportementaux, tels que l'anxiété, la locomotion, la mémorisation, l'apprentissage, ..., et des indicateurs neurologiques tels que le stress oxydatif, le gonflement et la perméabilité mitochondriale, le cytochrome C et le Ca^{++} dans le striatum et l'hippocampe, et en fin l'histologie du cerveau des rats exposée au THI et l'EXT durant de la période gestationnelle et lactationnelle.

3.1. Mesure de poids corporel

D'après les résultats de cette présente étude aucune variation significative n'a été détectée dans le poids corporel chez les groupes des rats de G1 exposés passivement durant la gestation et la lactation au THI et l'EXT, ces résultats sont en accord avec les travaux de (**Kagawa and Nagaro, 2018**), après une exposition prénatale des rats à 5mg/kg d'acétamipride.

3.2. Evaluation des paramètres comportementaux des rats de G1

Open Field ; dans cette étude, nous avons enregistré une diminution de l'activité locomotrice chez la descendance de la G1 (mâles et femelles) traités passivement par le THI. Ces résultats reflètent un effet neurotoxique sur les rats descendants confirment ainsi l'effet délétère de cet insecticide sur la fonction psychomotrice. Ces résultats concordent bien avec ceux obtenus par les travaux de recherche de **Sheets et al. (2016)**, ayant montré une diminution de l'activité motrice des progénitures des rats après l'exposition aux différents néonicotinoïdes via l'alimentation et le lait (de jours 0 de gestation jusqu'à le 21^{ème} jours de lactation). En outre, l'administration de clothianidine chez le rat a réduit l'activité motrice de la progéniture femelle selon des travaux réalisés par la Commission Européenne **en (2014)**.

EPM ; les résultats montrent également une augmentation de l'anxiété des rats mâles et femelles de G1 après l'analyse des résultats de test EPM, ces résultats sont en cohérence avec les résultats obtenus par **Burke et al. (2018)**, car ils ont enregistré une réduction du temps passé dans le bras ouvert de test EPM chez la descendance des rats traités passivement par 0.5 mg/kg d'imadaclopride. Par ailleurs, les travaux de **Alkam et al. (2013)** ont montré un effet anxiogène chez la descendance des souris male après le traitement pré et post-natale des mamans souris avec une dose de 0.2 mg/ml de nicotine, de plus les résultats obtenus par **Vaglenova et al. (2004)** ont montré que l'exposition des rates gestantes à 6 mg/kg de poids corporel de nicotine produit une augmentation de l'activité anxiolytique chez la descendance.

NOR ; la mémoire et l'apprentissage ont été évalués à l'aide de test NOR, donnant une évidence de perte de la mémoire et l'apprentissage de la descendance de G1. Selon les résultats des travaux de **Parameshwaran et al. (2011)**, les résultats obtenus dans cette étude, peuvent être expliqués par l'altération de la transmission synaptique au niveau de l'hippocampe qui est une région cérébrale jouant un rôle important dans les processus de la mémoire et l'apprentissage. Récemment, les travaux de **Liu et al. (2020)** ont montré un déficit dans la mémoire après l'exposition prés et post natale des rats à la nicotine, sachant que l'insecticide utilisé est mimétique de la molécule nicotinique. Nous enregistrons également que ces résultats sont en

accord avec les travaux précédents de **Abou-Donia et al. (2008)** ayant montré l'évidence de l'altération de la mémoire et l'apprentissage de la progéniture de rates après leur exposition pré et post-natale à 337 mg/kg d'imidaclopride, ces résultats sont en accord avec d'autres résultats obtenus en suite par **Kara et al. (2015)** après avoir exposés des rats nouveau-nés à 2 et 8 mg/kg d'imidaclopride.

KIS ; ce test est utilisé pour l'évaluation de la force musculaire des rongeurs. Dans ce test, nous avons enregistré une augmentation très hautement significative de la force musculaire des rats mâles et femelles traitées passivement par le THI, cette contractibilité excessive peut être expliquée par le fait que les récepteurs nicotiniques sont connus pour être impliqués dans la contraction musculaire quand ils sont induits par l'acétylcholine. Sachant que l'activité de l'AChE est réduite dans les deux régions du cerveau étudiées, il va de soi que la concentration de ce neurotransmetteur reste élevée et donc active intensivement les nAChRs donnant une motricité forte et prolongée (**Goetz, 2011 ; Novotny et al., 2011**). Et selon l'étude de **Farag et al. (2022)** l'AChE est une enzyme clé impliquée dans la neurotransmission cholinergique et elle est vital pour les fonctions musculaires et les comportements normaux, où la suppression de l'activité de cette enzyme pourrait induit des différentes anomalies neurocomportementales tels que l'altération de la fonction neuromusculaire enregistrée dans cette étude.

Test de la nage forcée ; ce test présente une augmentation significative de temps d'immobilité (TIM) chez les rats femelles et males de G1 traités passivement par le THI par rapport au CON. Cette immobilité est définie comme l'arrêt de tous les déplacements par le rat qui est reflète bien les symptômes de dépression induite par le THI, où la dépression peut survenir en raison de l'hyperactivité cholinergique. Selon les travaux de **Janowsky et al., 1972**, qui ont montré que l'accumulation de l'acétylcholine peut provoquer la dépression, ajouté à cela cette phénomène peut produire sous l'effet d'un stress oxydatif dans différents régions cérébrale (**Maes et al., 2011**). De plus, les néonicotinoïdes peuvent produire des symptômes dépressifs, lorsque ces insecticides administrés de manière chronique, peuvent provoquer une désensibilisation rapide et persistante de certains nAChRs impliqués dans la régulation de l'humeur (**Fenster et al., 1997 ; Mineur and Picciotto, 2009**). Où selon les travaux de **Paradiso et Steinbach (2003)**, la nicotine peut produire une désensibilisation plus puissante et plus durable de ces récepteurs que l'acétylcholine elle-même. Et quand ces néonicotinoïdes ont une structure similaire avec la nicotine, donc ces insecticides capable d'activer initialement les nAChRs, mais de provoquer ensuite leur désensibilisation et blocage lorsque la stimulation des récepteurs est

prolongée dans le temps (Quick and Lester, 2002). L'étude de Abd-Elhakim et al. (2018) ont rapporté une augmentation de la dépression chez les rats après un traitement chronique par 1mg/kg d'imidaclopride pendant 60 jours. Tandis que les rats traités par G1EXT montrent une diminution du temps d'immobilité par rapport au G1THI, ces résultats peuvent être expliqués par la richesse de l'extrait par des composés naturels avoir des effets neuroprotecteurs.

Test de Balance beam ; ce test montre une diminution significative de temps de marche sur la poutre (beam) chez les rats femelles et mâles traités passivement par le THI en comparaison avec le groupe G1CON, autrement dit ayant une marche rapide. Ces résultats reflètent une amélioration dans l'équilibre et la coordination des animaux. Ces résultats suggèrent que la durée d'exposition au THI dans ce cas ne pourrait pas altérer les neurones dopaminergiques responsables de l'équilibre et du contrôle de la marche (Sherer et al., 2003). Les résultats de cette présente étude sont en désaccords avec les résultats de Abou-Donia et al. (2008) qui notent qu'il y a eu un déficit dans l'équilibre et la coordination des progénitures des rats exposés à l'imidaclopride, tandis que les rats mâles ou femelles traités soit par l'extrait ou la combinaison montrent une augmentation de temps de marche sur la poutre par rapport au groupe G1THI.

3.3. Estimation du poids relatifs de cerveau

Nos résultats ne montrent aucune variation significative enregistrée dans le poids relatif du cerveau chez les différents groupes des rats de G1, ces résultats sont similaires aux résultats obtenus lors des travaux de recherche effectués par Sano et al. (2016) après le traitement des rats par 1-10 mg/kg d'acétamipride durant la gestation et la lactation.

3.4. Gonflement et perméabilité mitochondriale

L'ouverture des pores de transition de perméabilité mitochondriale (mPTP) contribue au phénomène de gonflement mitochondrial et conduit ainsi à diverses pathologies impliquant la mort cellulaire nécrotique ou apoptotique, cette mort est la cause principale des maladies dégénératives des muscles et du cerveau (Millay et al., 2008). mPTP se trouvent à la membrane mitochondriale interne qui sont perméables à des solutés allant jusqu'à 1,5 kDa, et ils s'ouvrent en présence de Ca^{2+} matriciel élevé et/ou des ERON (Bernardi et al., 1998). Les résultats de cette présente étude montrent que le traitement prés et post-natale des rats par le THI a montré une augmentation de la perméabilité et le gonflement mitochondrial dans l'hippocampe et le striatum des rats mâles et femelles de G1. Ces résultats peuvent être expliqués par le stress calcique et oxydatif que nous avons montré plus tard dans nos résultats. Où quelques études ont

montré que l'exposition aux néonicotinoïdes augmentait la perméabilité mitochondriale (**Gasmi et al., 2017 ; Annabi et al., 2019**). Ce phénomène pourrait être dû à la peroxydation lipidique de la membrane mitochondriale induite par les ERON (**Nicolson, 2014; Lakroun et al., 2015**). Ou due au calcium matriciel qui est donc le régulateur phare des pores mitochondriaux et leur inducteur le plus puissant. Où la fixation des néonicotinoïdes sur certains nAChRs induit leur activation et ouverture, leur ouverture provoque une accumulation excessive de Ca^{++} dans le cytosol cellulaire. Étant donné que les mitochondries agissent comme des réservoirs d'ions Ca^{++} , donc elles peuvent entraîner une augmentation de ses niveaux dans les mitochondries, où le calcium, à leur tour, peuvent provoquer l'ouverture des pores de transition de perméabilité mitochondriale et la libération des facteurs apoptotiques au cytosol (**Wojda et al., 2008 ; Giorgi et al., 2012**). Des résultats similaires ont été observés dans les recherches menées par **Hunter et al. (1976)**, où ils ont été montrés que l'accumulation de calcium dans la matrice mitochondriale est à la fois nécessaire et suffisante pour déclencher l'ouverture des pores de transition de perméabilité mitochondriale. De plus, des travaux similaires ont été présentés par l'équipe de **Szabó (1992)**, qui a mis en évidence l'existence de deux sites d'action distincts, sensibles au calcium ainsi qu'à d'autres métaux. Le premier site est situé dans la matrice mitochondriale lequel le Ca^{2+} induit l'ouverture des pores mitochondriale, tandis que le Mg^{2+} , le Mn^{2+} , le Ba^{2+} , et le Sr^{2+} ont une action inverse par compétition avec le Ca^{2+} . Par contre notre extrait a induit une dissipation de la perméabilité dans les deux régions du cerveau. Ces résultats peuvent être dus aux métabolites naturels dans l'extrait qui protège les pores mitochondriale.

3.5. Les paramètres de stress oxydatif chez les rats mâles et femelles de G1

Les modifications de l'équilibre oxydatif, telles qu'une augmentation des radicaux libres, une diminution des systèmes de piégeage de ces radicaux ou les deux ensemble, peuvent altérer l'intégrité cellulaire et moléculaire (**Gomez et al., 2020**).

Le MDA est connu pour être un marqueur important de la peroxydation lipidique. Dans cette étude, les résultats montrent une augmentation de taux de MDA chez les rats de G1 exposés passivement au THI par rapport au G1CON, les seuls résultats retrouvés dans la littérature scientifique concernant l'effet de THI sur les embryons de poulet après exposition maternelle, qui montrent une augmentation de MDA (**Farag et al., 2021**).

Le GSH est le principal antioxydant de la cellule, il piège directement les radicaux libres et protège les biomolécules de l'attaque de ces radicaux. Dans cette étude, nous avons enregistré

une diminution de GSH chez G1THI après traitement pré et post-natal des rates par le THI en comparaison avec le G1CON, ce résultat peut indiquer l'inhibition de la synthèse du GSH ou son utilisation excessive pour la détoxification des radicaux libres induits par les nicotinoïdes (ancienne génération des néonicotinoïdes) (Defraigne and Pincemail, 2008). Des résultats similaires enregistrés ont été obtenus par les travaux de Das et al. (2009), ayant révélé une diminution significative des niveaux de GSH du cerveau après exposition des rats males à différents doses de la nicotine (composé naturel des néonicotinoïdes) pendant 7 jours.

La SOD est un métalloenzyme convertit le superoxyde en H₂O₂ (Fridovich, 1995). Dans cette étude, nous avons révélé une augmentation de l'activité de la SOD chez les rats traités passivement par l'insecticide, G1THI, par rapport au G1CON. Des travaux récents, malheureusement sur un autre model expérimental d'embryon de poulet ont révélé que le traitement pré-natal d'embryon de poulet par le THI a induit l'augmentation de la production des radicaux libres dans tous les organes des poussins (Farag et al., 2021) et que selon certains auteurs la surproduction des ERON pourrait augmenter significativement l'activité de la SOD (Katić et al., 2020),

La catalase une enzyme majeure de détoxification de H₂O₂, les résultats de cette étude montrent une augmentation de l'activité de CAT chez les rats de G1THI. Cette augmentation est due à la production excessive des radicaux libres (Mehta and Gowder, 2015). Une étude de Khanna et ses collaborateurs en 2012 semble controverser ces résultats étant donné que ces auteurs ont rapporté une réduction de l'activité de catalase dans le cerveau et le cervelet des progénitures des rats qui ont été exposés passivement à la nicotine. Par ailleurs, les travaux d'Al-sawalha et al. (2017) ont abouti à des résultats qui concordent avec les résultats de cette étude, puisque ils ont révélé que l'exposition à WTS (Waterpipe Tobacco) durant la gestation a augmenté l'activité de la catalase dans l'hippocampe des souris de la progéniture.

La glutathion S-transférase (GST) est une enzyme de détoxification, elle protège les macromolécules cellulaires contre les attaques radicalaires (Townsend and Tew, 2003). Dans cette présente étude, nous avons enregistré une diminution de l'activité de GST chez les rats G1THI, dont l'augmentation de l'activité de GST peut être due à une carence en GSH et une réponse adaptative de la cellule pour lutter contre le stress oxydatif (El-Gendy et al., 2010). Selon la base de données scientifiques, il faut noter qu'il y a une forte carence des travaux élaborés sur l'impact de cet insecticide sur les systèmes enzymatiques et non enzymatiques de

l'organisme concernant ce model expérimental pré et post-natal quant à l'étude de la toxicité de THI.

Les amandes amères des noix d'abricot sont surabondantes en huile (40-56%), protéines (22-29%), sucres (5-20%), fibres (6-9%), potassium (560-600 mg/100 g), phosphore (90-107 mg/100 g) magnésium (191-204 mg/100 g), calcium (138-149 mg/100 g), zinc (5-3,3 mg/100 g) et 2,5-2,9 mg/100 g de fer (**Femenia et al., 1995**). Elles contiennent également des vitamines B1, B2, B3, C et de la vitamine E (tocophérol) (**Normakhmatov and Khudaishukurov, 1973**). Elles sont également riches en composés phénoliques (connus comme agents thérapeutiques pour le traitement de la maladie Alzheimer) (**Jayasena et al., 2013**), tels que l'acide caféique, le gallate, le chlorogène, le pcoumarique, le syringique, le sinapique, la quercétine et l'acide férulique (**Soong and Barlow, 2004 ; Chen et al., 2019**). Par ailleurs, plusieurs travaux ont présenté des effets bénéfiques de ces composés tels que les travaux de **Cheng et al. (2015)** et **Yang et al. (2014)** qui ont révélé que l'amygdaline des amandes amères des noix d'abricot possédant un potentiel thérapeutique contre les les maladies neurodégénératives. Malheureusement la littérature consultée dans l'état de l'art sur l'effet cytoprotecteur des extraits de ces amandes n'a fourni aucune information pour justifier les effets préventifs de l'extrait utilisé dans cette présente étude. En effet, l'EXT utilisé dans le traitement préventif a prouvé une activité cytoprotectrice de la progéniture G1 contre les différents aspects neurotoxiques tels que le stress oxydant, la perte de l'intégrité mitochondrial, l'apoptose cellulaire, désordre cognitif et neurocomportemental. Des travaux sur le model de rat adulte, il s'avère, selon les travaux de **Chen (2014)**, l'amygdaline extraite des amandes amères des noix d'abricot diminue le taux de MDA de 6,29 nmol/mg à 4,77 nmol/mg, et améliore l'activité de de la SOD 17,98 U/mg à 30,26 U/mg quand ce composé est administré à la dose de 40 mg/kg chez rats adulte.

3.6. AChE

De même, après une exposition pré et post-natale au THI, l'activité de l'AChE a significativement diminuée dans le striatum et l'hippocampe des rats de G1THI. Cette diminution aurait contribué à l'accumulation de l'acétylcholine qui peut induire des effets neurotoxiques ultérieurs tels que des convulsions, des lésions cérébrales qui les accompagnent (œdème cellulaire, nécrose neuronale), des fasciculations musculaires et des crampes (**Bennett et al., 2020**). Pour certains auteurs, la cause de l'inhibition de l'activité estérasique est inconnue

car les néonicotinoïdes ne sont pas des inhibiteurs de l'AChE (Vohra and Khera, 2015), ces mêmes auteurs ont enregistré une diminution de l'activité de l'AChE dans le cerveau de rats femelles après une exposition pré et post-natale à l'imidaclopride. Alors, selon les travaux de Terali (2018), les néonicotinoïdes sont susceptibles de posséder un potentiel latent d'activité anticholinestérasique, où ces travaux ont démontré à l'aide des analyses in silico que ces insecticides (acétamipride, clothianidine, dinotéfurane, imidaclopride, nitenpyram, thiachlopride et thiaméthoxame) ont le potentiel d'inhiber les acetylcholinestérasas humaines. Bien qu'il soit prévu que ces insecticides adopter différents modes de liaison dans le site actif de l'AChE, ils sont toujours capables de former des interactions favorables de liaison H et / ou d'empilement de π - π avec les différents résidus de site actif. Donc la pénétration facile des néonicotinoïdes sur la barrière hémato-encéphalique des mammifères et leurs fixation spécifique sur le site actif de AChE suggèrent une nouvelle stratégie pour bloquer les voies cholinergiques.

3.7. Cytochrome c

Les résultats de cette présente étude montrent une augmentation de la concentration cytosolique de cytochrome c chez le lot G1THI en comparaison avec le lot G1CON, ces résultats peuvent être expliqués par les phénomènes de gonflement et perméabilité mitochondriale induisant l'ouverture des pores mitochondriaux, ce qui provoque ainsi une libération accrue de cytochrome c dans le cytosol (Finucane et al., 1999). Encore une fois de plus, selon les bases de données consultées, il n'y a aucune étude témoignant de cette variation anormale de Cyt-c chez la G1, quant à l'exposition pré et pos-natal des rates, cependant l'exposition des adultes à 3.14 mg/kg d'acétamipride a révélé une telle augmentation dans le cytoplasme (Gasmi et al., 2019).

3.8. Ca^{++} cytosolique dans le striatum et l'hippocampe

Nos résultats montrent une augmentation de la concentration extra-mitochondriale de calcium dans le striatum et l'hippocampe des rats de G1THI en comparaison avec le lot G1CON. Des résultats similaires ont été présentés par EFSA (2013) et qui montrent que lorsque les rats sont exposés à l'acétamipride, d'imidaclopride ou la nicotine il y'a eu une augmentation de l'influx de calcium extramitochondrial. Cela concorde bien avec les travaux de Urbani et al. (2019) qui ont révélé que le phénomène de la perméabilité mitochondriale induisant la libération de Ca^{++} au cytosol cellulaire, justifiant encore une fois que la perméabilité mitochondriale enregistré dans cette étude est la principale raison de ce flux cytosolique de Ca^{++} .

3.9. Etude histopathologique du cerveau des rats de G1

L'exposition au THI in utero et pendant la lactation a induit chez la progéniture, une dégénérescence des cellules neuronales et gliales et une vacuolisation avec congestion des vaisseaux sanguins dans les différentes coupes du cerveau. Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par **Vohra et Khera (2015)** qui ont révélé une hémorragie périvasculaire, dégénérescence et migration nucléaire des neurones quand les rats de G1 sont exposés passivement à l'imidaclopride aux doses de (10 mg/kg/j et 20 mg/kg/j). De plus, le traitement par l'EXT a montré par contre une architecture et une structure normale du cerveau, ce qui justifie son pouvoir cytoprotecteur et antineurotoxique (**Vauzour, 2008**).

- **Conclusion :**

- L'exposition des rates durant la gestation et la lactation au THI ne montre aucune variation dans le poids corporel ou le poids relatif des cerveaux des adultes de G1.
- L'analyse neurocomportementale a montré une diminution de la fonction motrice, un comportement anxiogène et dépressif, une perte de mémoire, une altération de la force musculaire, mais avec une amélioration de l'équilibre et la coordination des rats mâles et femelles de G1.
- Cette étude permet de conclure une perte de perméabilité membranaire et gonflement mitochondrial dans le striatum et l'hippocampe, avec la génération de stress oxydatif chez la G1.
- Cette étude a montré une perte de la fonction cholinergique et une augmentation de deux indicateurs pro-apoptotique cyt-c et le Ca²⁺ dans les tissus des deux régions cérébrales étudiées.
- L'exposition passive de la G1 au THI a montré une dégénérescence cellulaire, une congestion et une hémorragie périvasculaire.
- Le traitement en association de l'EXT avec l'insecticide THI a joué un rôle cytoprotecteur et préventif en empêchant l'apparition des différentes anomalies mitochondriales, cellulaires et tissulaire dans ces deux régions.

Chapitre 4 :

**Hépatotoxicité de THI et
bioactivité de l'extrait
hydroalcoolique de
P.armeniaca L.**

4. Hépatotoxicité de THI chez les rats adultes sous exposition chronique et bioactivité de l'extrait hydroalcoolique des amandes amères des noix d'abricot *P. armeniaca* L.

1. Matériel et méthodes (les méthodes n'étant pas expliquées dans ce chapitre, elles sont expliquées dans le chapitre 2 (p :85-96)).

1.1. Entretien et répartition des animaux

1.2. Mesure de poids corporel

1.3. Estimation des du poids relatif du foie

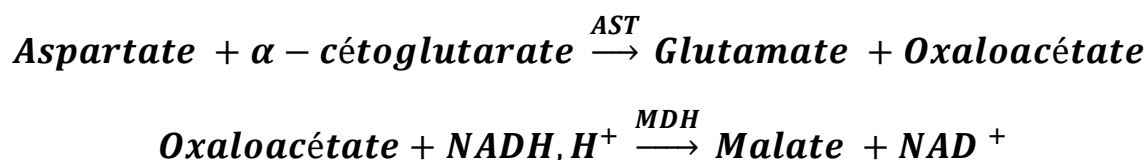
1.4. Prélèvement et analyses biochimiques

Après 3 mois de traitement, les rats ont été sacrifiés et une ponction sanguine a été effectuée pour l'évaluation biochimique de la fonction hépatique comme AST, ALT, GGT, PAL, BILIT, GGT, et les protéines totales. L'évaluation de ces paramètres a été faite en utilisant des Kits réactifs spectrophotométriques de marque **SPINREACT (Espagne)**, selon les recommandations du laboratoire fabricant.

1.4.1. Principe d'évaluation des paramètres de la fonction hépatique

1.4.1.1. Dosage de l'aspartate aminotransférase (AST).

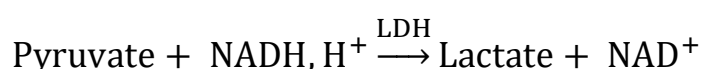
Transaminase glutamo-oxaloacétique TGO ou L'enzyme AST (Aspartate Aminotransférase), présente dans le cytoplasme et les mitochondries, catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé de l'aspartate à l' α -cétoglutarate, formant ainsi du glutamate et de l'oxaloacétate. Ensuite, l'oxaloacétate est converti en malate par l'action de la malate déshydrogénase (MDH) en présence de $NADH+H^+$, selon les réactions suivantes :



L'activité de l'AST est proportionnel au taux de réduction de la concentration en $NADH^+H^+$ qui mesuré par photométrie (**Murray, 1984b**).

1.4.1.2. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALT)

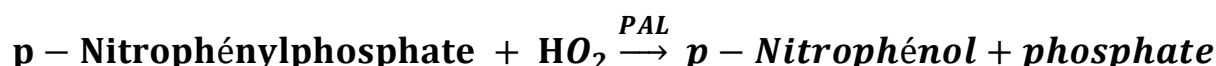
L'enzyme ALT (Alanine Aminotransférase) ou GPT (Glutamate-Pyruvate Transaminase) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé de l'alanine à l' α -cétoglutarate, ce qui entraîne la formation de glutamate et de pyruvate. Par la suite, le pyruvate est converti en lactate par l'action du lactate déshydrogénase (LDH) en présence de NADH+H⁺, selon les réactions suivantes :



L'activité de l'ALT est proportionnel au taux de réduction de la concentration en NADH+H⁺ qui mesuré par photométrie (**Murray, 1984c**)

1.4.1.3. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL)

La phosphatase alcaline (PAL) facilite l'hydrolyse du p-Nitrophénylphosphate à un pH de 10.4, entraînant la libération de p-nitrophénol et de phosphate, selon la réaction suivante :



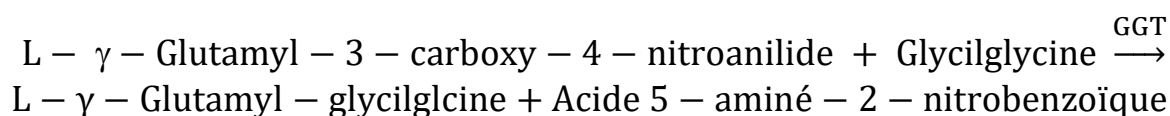
La mesure de la réduction de la concentration en NADH+H⁺ par photométrie est directement liée à l'activité catalytique de la phosphatase alcaline (**Wenger, 1984**)

1.4.1.4. Dosage de la bilirubine totale (BILIT et directe (BILID))

À un pH acide, la bilirubine est convertie en azobilirubine par réaction avec l'acide sulfanilique diazoté, ce qui permet de mesurer sa concentration par photométrie. Dans le sérum, la bilirubine se présente sous forme de bilirubine-glucuronide (bilirubine conjuguée) et de bilirubine libre liée à l'albumine. La bilirubine-glucuronide réagit directement en milieu aqueux, ce qui correspond à la bilirubine directe. En revanche, la bilirubine indirecte (bilirubine non conjuguée) nécessite une solubilisation par le diméthylsulfoxyde (DMSO). Lors de la détermination de la bilirubine indirecte, on mesure également la bilirubine directe, ce qui donne le résultat correspondant à la bilirubine totale. L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration de bilirubine présente dans l'échantillon (**Kaplan et al., 1984b**)

1.4.1.5. Dosage de Gamma glutamyl transférase (GGT)

Le GGT est un transpeptidase présente dans les membranes cellulaires de nombreux tissus tels que le foie, pancréas, poumons, le cœur, le cerveau ...etc, Il facilite le transfert du groupe γ -glutamyl-p-nitroanilide vers un dipeptide accepteur contenant un groupe γ -glutamyl, plus spécifiquement le groupe glycylglycine. Cela se produit selon la réaction suivante:



La vitesse à laquelle l'acide 5-amino-2-nitrobenzoïque se forme, mesurée par photométrie, est directement proportionnelle à la concentration de l'enzyme γ GT présente dans l'échantillon testé (Persijn et al., 1976 ; Gendler et al., 1984).

1.4.1.6. Dosage des protéines totales

Selon la fiche technique de Spinreact, le dosage des protéines totales a été effectué en utilisant une méthode colorimétrique qui repose sur le principe suivant : en milieu alcalin, les protéines réagissent avec les ions cuivre pour former un complexe bleu-violet. L'intensité de la couleur développée est directement proportionnelle à la concentration des protéines totales présentes dans l'échantillon (Koller, 1984 ; Burtis et al., 2005).

1.5. Préparation de la matrice mitochondriale de foie

1.6. Evaluation du gonflement et perméabilité mitochondriale

1.6. Dosage des paramètres de stress

1.7. Préparation de la fraction cytosolique

1.7.1. Mesure de l'activité enzymatique de l'acétylcholine estérase

1.7.2. Dosage de calcium cytosolique

1.8. Etude histopathologique

1.9. Analyse statistique

2. Résultats

2.1. Estimation du poids relatif du foie

Les résultats de cette étude montrent une augmentation significative ($p < 0.05$) de poids relatif du foie chez le groupe THI en comparaison avec le groupe CON, par contre aucune variation significative constatée chez les autres lots (**tableau 19**).

Tableau 19. Poids relative (g) du foie des différents groupes de rats traités.

groupes	CON	THI	EXT	THI + EXT
Poids relative (g)	2,56 ± 0,33	2,79 ± 0,64*	2,63 ± 0,49 ns	2,83 ± 0,42 ns

2.2. Les paramètres d'évaluation de la fonction hépatique

Les résultats de cette présente étude (**tableau 20**), ont montré une augmentation significative ($p < 0.05$) de l'activité enzymatique sérique ALT et AST et la concentration de la BILIT ; et une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) de PAL et non significative ($p > 0.05$) de GGT, chez le lot THI en comparaison avec le groupe CON. D'autre part, nous avons enregistré une diminution hautement significative ($p < 0,01$) de la concentration des protéines totales chez le groupe THI par rapport au groupe CON.

Tableau 20. Variation des paramètres sériques de la fonction hépatique chez les différents groupes traités [(ALT, AST, GGT, PAL (IU/L), BILIT (mg/L), protéine totale (g/dl)].

	CON	THI	EXT	THI+EXT
AST (UI/l)	136.86 ± 4.22	208.71 ± 8.16 *	123.57 ± 7.76 ns	108.43 ± 8.68 ns
ALT (UI/l)	36.59 ± 4.29	57.93 ± 2.22 *	38.34 ± 2.96 ns	35.03 ± 2.86 ns
GGT (UI/l)	9.29 ± 1.19	10.46 ± 1.36 ns	6.75 ± 2.61 ns	8.36 ± 0.64 ns
BILIT (mg/L)	1.67 ± 0.36	4.94 ± 0.89*	1.86 ± 0.19 ns	1.78 ± 0.49ns
PAL (UI/l)	113.26 ± 4.05	293.14 ± 13.22 **	122.71 ± 4.31 ns	142.41 ± 3.77 ns
Protéines totales (g/dl)	96.60 ± 2.41	81.27 ± 0.84 **	90.23 ± 1.99 ns	90.89 ± 2.57 ns

2.3. Evaluation du gonflement mitochondrial

Les résultats de cette étude ont montré une augmentation significative ($p < 0.05$) du gonflement des mitochondries hépatiques chez les rats traités par le THI par rapport au groupe CON, par contre les rats traités par l'EXT ont montré une diminution significative ($p < 0.05$) de gonflement en comparaison avec le groupe THI (**Tableau 21**)

Tableau 21. Variation de gonflement mitochondrial du foie chez les différents groupes traités.

Paramètre Groupes de rats	Gonflement mitochondrial (densité optique)
CON	0.50 ± 0.02
THI	0.17 ± 0.04 *
EXT	0.49 ± 0.02 #
THI+ EXT	0.39 ± 0.04 ns

2.4. Evaluation de la perméabilité mitochondriale du foie

Les résultats de cette étude montrent une augmentation significative ($p < 0.05$) de la perméabilité mitochondriale dans le foie chez le groupe THI par rapport au groupe CON. Or, les lots traités par l'EXT et EXT+THI montrent une diminution significative ($p < 0.05$) de cette perméabilité en comparaison avec le groupe THI (**Tableau 22**).

Tableau 22. Variation de perméabilité mitochondriale du foie des différents groupes de rats traités.

Paramètre Groupes de rats	Perméabilité mitochondriale Mesurée en $\Delta DO/\Delta t$
CON	0.0006 ± 0.0002
THI	0.006 ± 0.002 **
EXT	0.0011 ± 0.0003#

THI + EXT	0.0012± 0.0004#
------------------	-----------------

2.5. Evaluation du statut redox dans les mitochondries hépatiques

CAT : L'activité enzymatique de la CAT mitochondriale augmente de façon significative ($p < 0.05$) chez les groupes THI et THI+EXT par rapport au CON, et présente, par ailleurs, une diminution significative ($p < 0.05$) chez le groupe EXT en comparaison avec le groupe THI (figure 57).

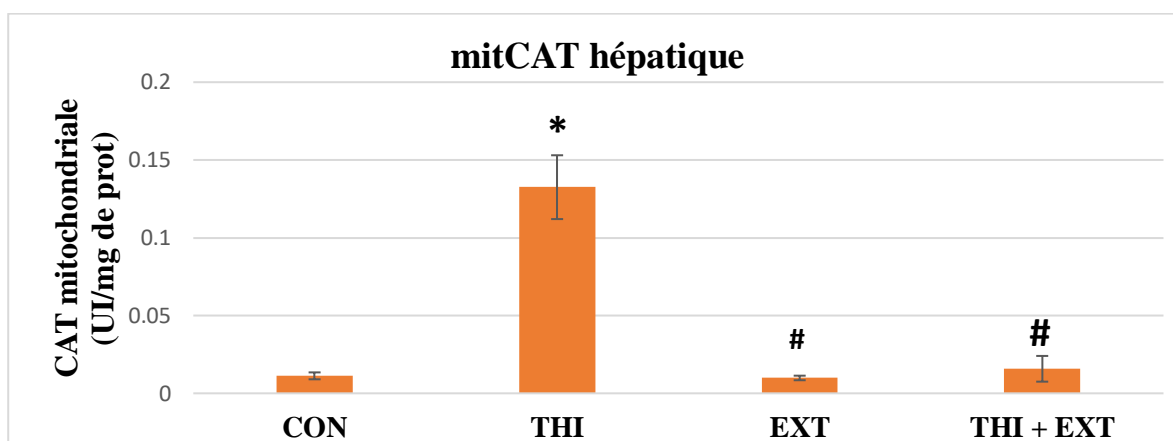


Figure 54. Variation de l'activité enzymatique de mitCAT dans le foie des différents groupes de rats.

SOD : Les résultats de cette étude ont montré une diminution significative ($p < 0.05$) de l'activité de la SOD dans la matrice mitochondriale dans le foie du groupe THI en comparaison avec le groupe CON. Cette activité a été améliorée de façon significative ($p < 0.05$) et très hautement significative ($p < 0,001$) dans le foie chez groupes EXT et EXT + THI respectivement par rapport au groupe THI (figure 58).

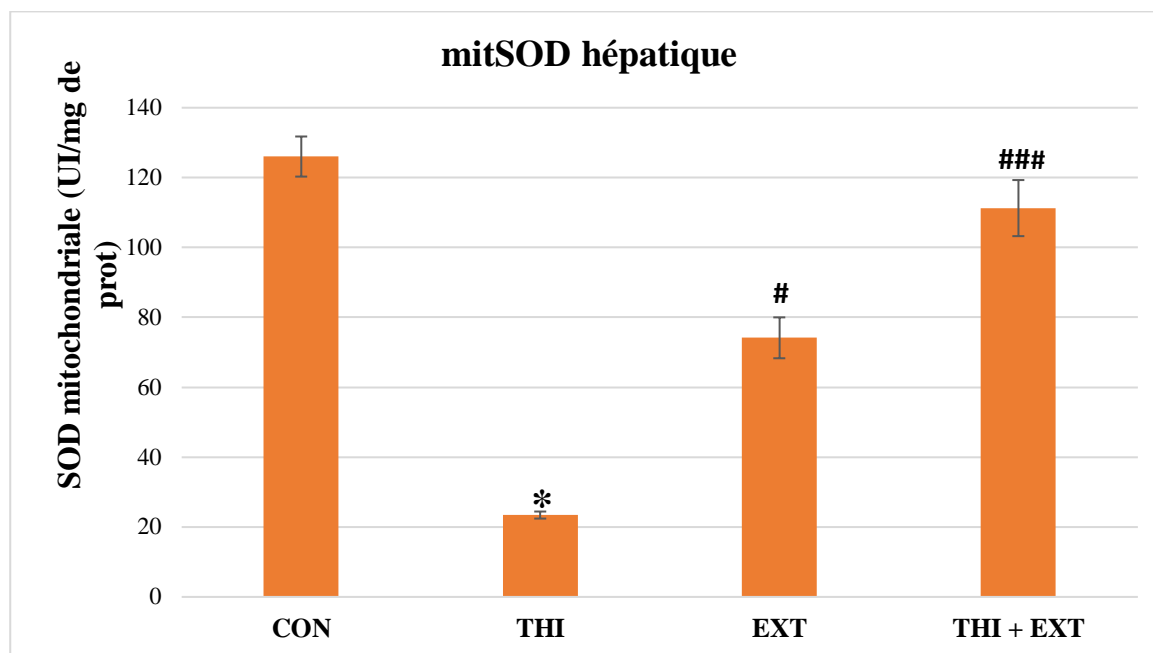


Figure 55. Variation de l'activité enzymatique de mitSOD dans le foie des différents groupes traités.

MDA : Les résultats de l'analyse statistique montrent une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) du taux de ce paramètre de la lipoperoxydation dans le foie chez le groupe THI en comparaison avec le groupe CON. Aussi, ces mêmes résultats montrent que les lots EXT et EXT+THI ont subi respectivement une diminution significative ($p < 0.05$) et hautement significative ($p < 0.01$) de MDA dans les mitochondries hépatiques par rapport au groupe THI (figure 59).

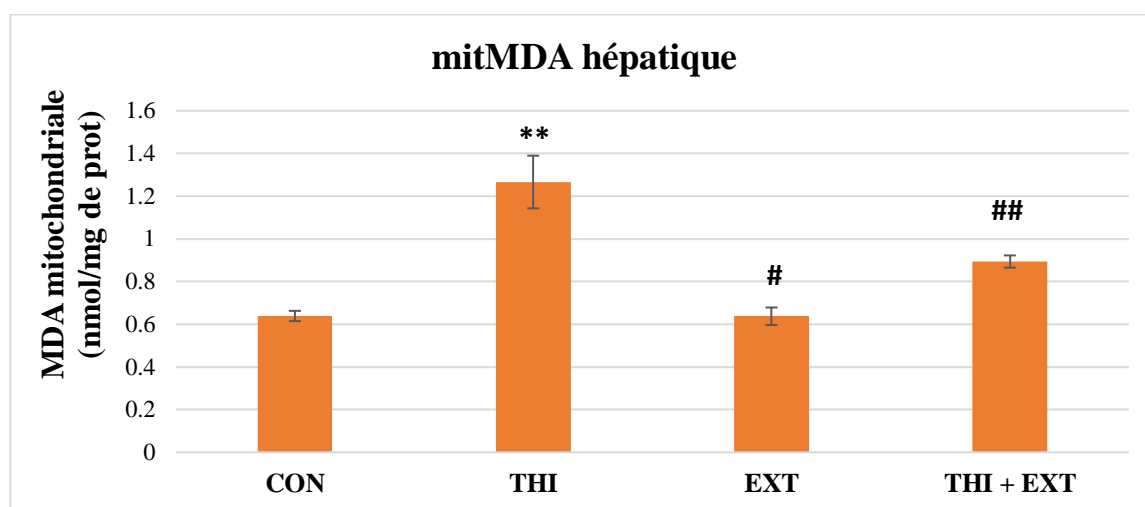


Figure 59. Variation de taux de mitMDA dans le foie des différents groupes de rats traités.

GSH : nous avons enregistré une diminution significative ($p < 0.05$) du taux de GSH mitochondrial dans le foie du groupe THI par rapport au groupe CON. Et il n'y a eu aucune variation significative de dans la concentration de ce tripeptide chez les autres groupes (**figure 60**).

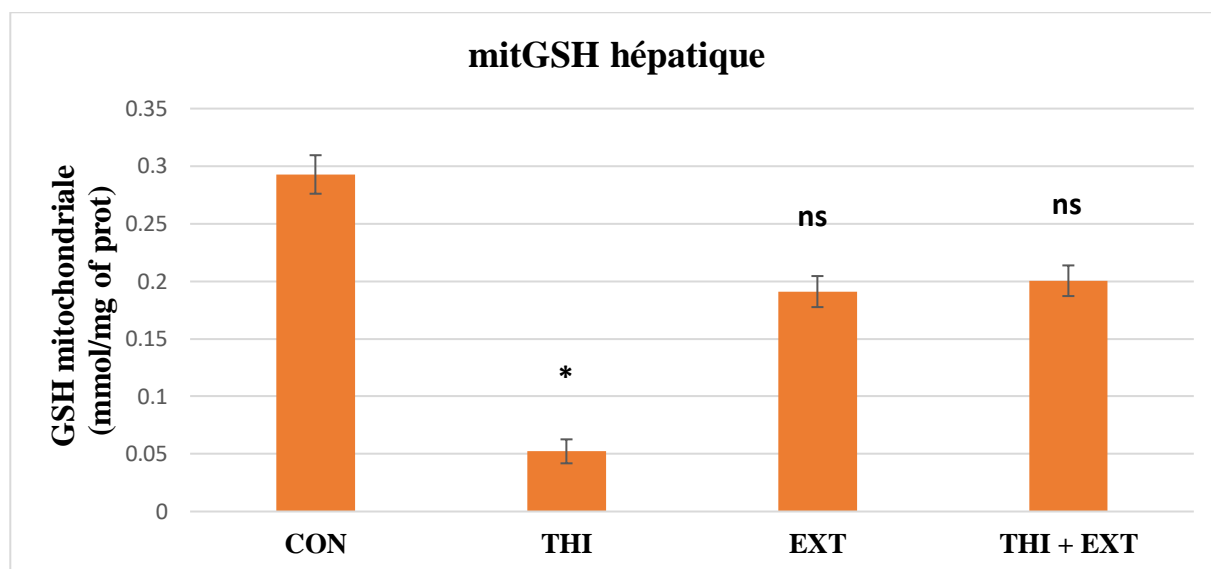


Figure 56. Variation de taux de mitGSH dans le foie des différents groupes de rats traités.

GST : après analyse statistique, on a remarqué qu'il existe une augmentation significative ($p < 0.05$) de l'activité enzymatique de GST dans les mitochondries du foie chez le groupe THI par rapport au groupe CON. De l'autre côté, on a constaté également une diminution significative ($p < 0.05$) et hautement significative ($p < 0.01$) de l'activité enzymatique de GST dans le foie respectivement chez les lots EXT et EXT + THI par rapport au groupe THI (**figure 61**).

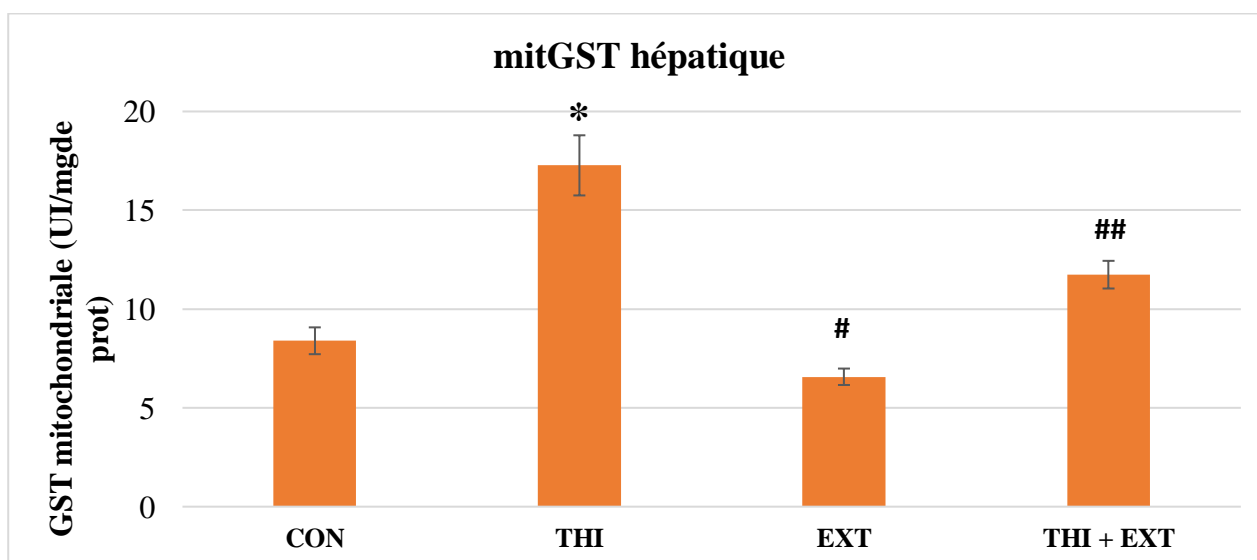


Figure 57. Variation de l'activité enzymatique de mitGST dans le foie des différents groupes traités.

GPX : Les résultats de cette présente étude ont montré une augmentation significative ($p < 0.05$) de l'activité enzymatique de GPX chez le groupe THI en comparaison avec le groupe CON. Or, il n'y a eu aucune variation significative chez les autres groupes (**Figure 62**).

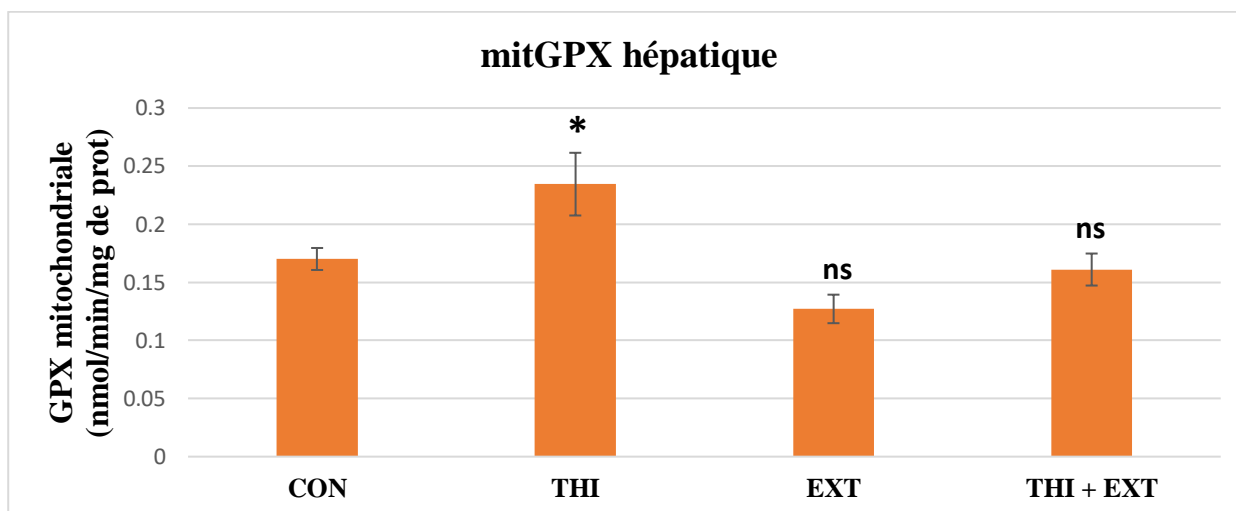


Figure 58. Variation de l'activité enzymatique de mitGPX dans le foie des différents groupes de rats traités.

2.6. AChE

L'évaluation enzymatique de l'AChE a montré une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de sa activité dans le foie chez le groupe THI par rapport au groupe CON. Par contre l'activité de cette enzyme a été améliorée de façon hautement significative ($p < 0.01$) et significative ($p < 0.05$) chez les groupes EXT et THI+EXT respectivement, en comparaison avec le groupe THI (**figure 63**).

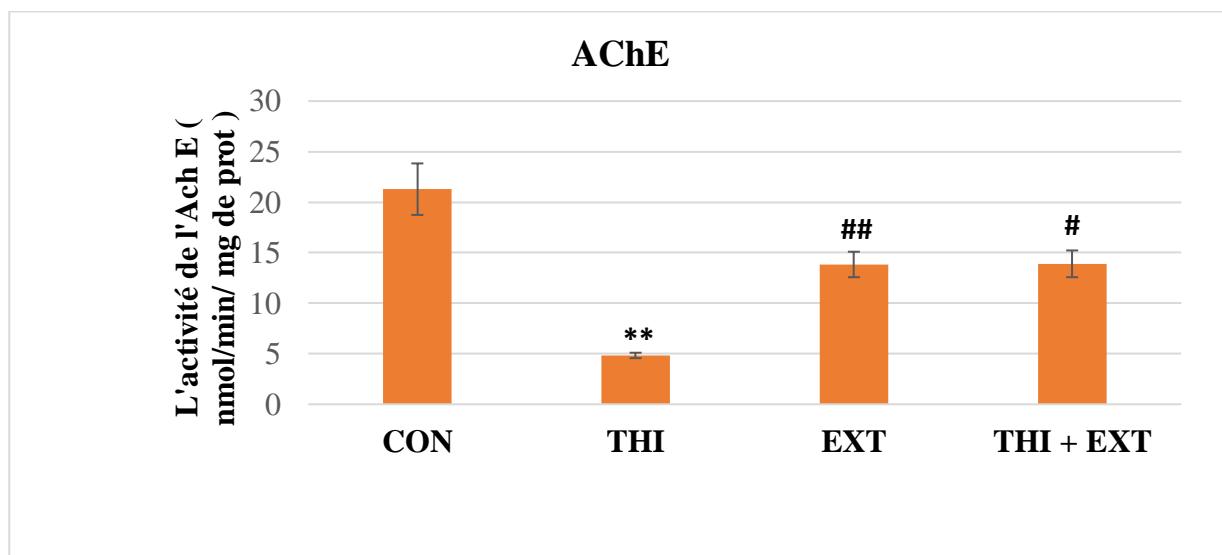


Figure 59. Variation de l'activité enzymatique d'AChE dans le foie des différents groupes de rats traités.

2.7. La teneur cytosolique en Ca^{++}

Les résultats de cette étude indiquent une augmentation significative ($p < 0.05$) de la concentration cytosolique de calcium dans le foie chez les rats du groupe THI par rapport au groupe CON. Or, il n'y a aucune variation significative enregistrée chez les autres groupes (figure 64).

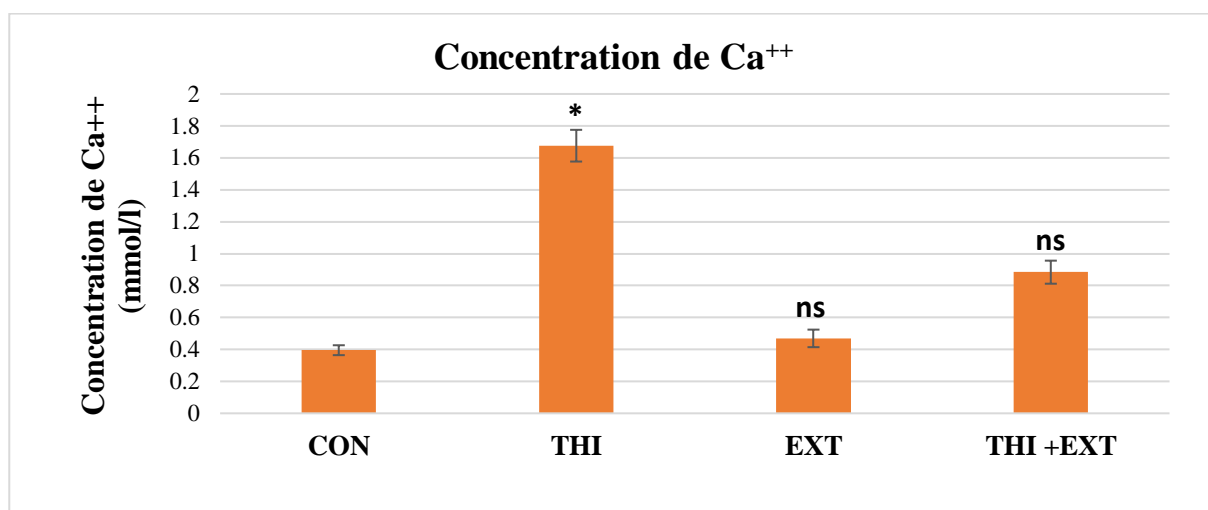


Figure 60. Variation de taux de calcium cytosolique dans le foie des différents groupes de rats traités.

2.8. Histologie de foie

L'étude histopathologique du foie (**figure 65**) a permis de montrer chez les groupes (CON) et (EXT) un agencement normal des hépatocytes en cordon. Or, pour le groupe THI, cette étude a montré des coupes histologique montrant des dilatations des sinusoides hépatiques et contenant également des globules rouges (congestion) avec désarroi des hépatocytes (nonagencements **encerclés**) ; dégénérescence des hépatocytes (**flèches noires**) avec quelques hépatocytes nécrotiques (**triangles rouges**) ; le groupe THI+ EXT a affiché des sinusoides hépatiques dilatés, sinon sans autre effet remarqué.

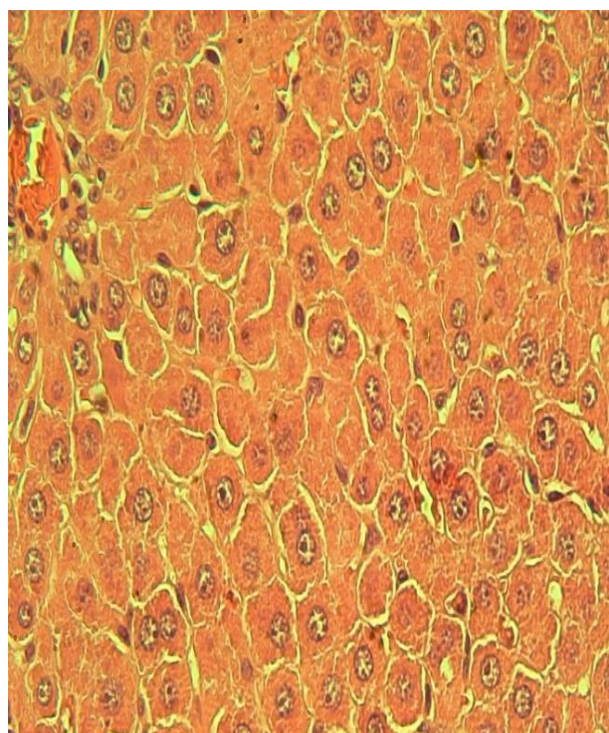
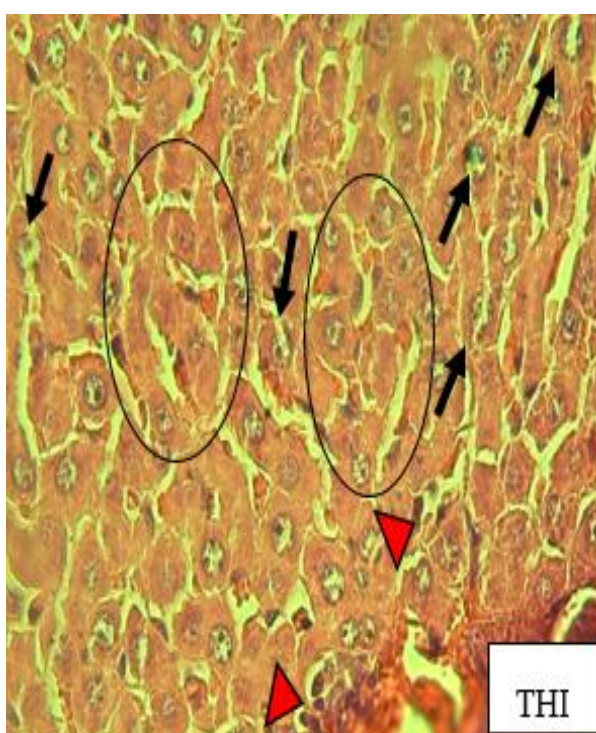
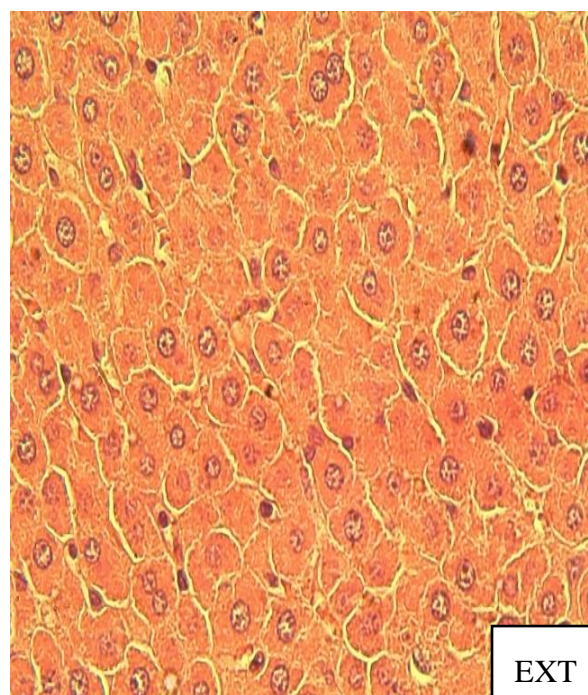
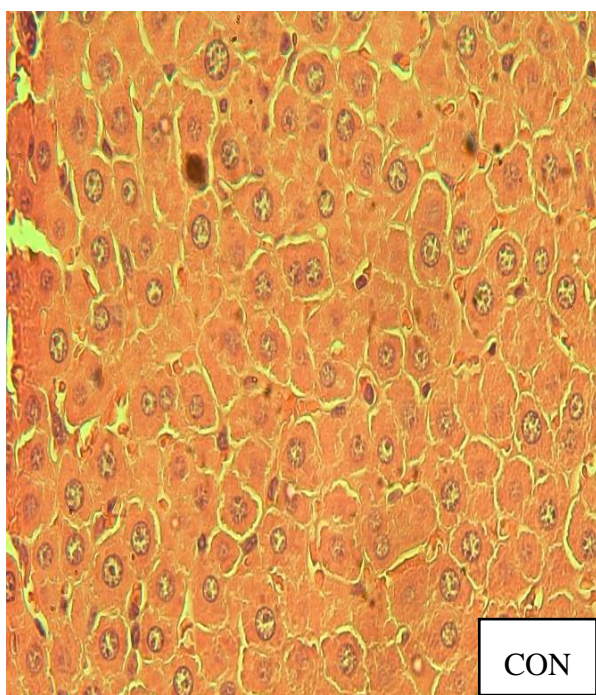


Figure 61. Les coupes histopathologiques du foie des différents groupes de rats traités.

Les groupes (CON) et (EXT) : des hépatocytes normaux dans le cordon ; groupe (THI) : dilatation des sinusoides hépatiques contient des globules rouges avec un désarroi d'hépatocytes (**cercle**) ; Dégénérescence des hépatocytes (**flèche noire**) ; des hépatocytes nécrotiques (**triangle rouge**) ; (THI + EXT) sinusoides hépatiques ((H&E) Gr X400).

3. Discussion

L'objectif de cette partie d'étude est l'évaluation des effets toxiques sur le foie associés à une exposition chronique au THI et l'étude également des effets cyto-protecteurs de l'EXT.

3.1. Estimation du poids relatif du foie

Dans cette étude nous avons enregistré une augmentation de poids relative du foie, ce qui prouve des effets hépatotoxiques de THI. Ces résultats sont en accord avec les résultats de la recherche obtenus récemment par **Zheng et al. (2020)**, qui ont rapporté que l'administration de 20 mg /kg /jour d'imidaclopride pendant 28 jours augmente le poids relatif du foie.

THI+
EXT

3.2. Les paramètres biochimiques de foie

Le traitement des animaux par le THI pendant 30 jours a induit une augmentation des activités d'ALT, AST, PAL et la concentration de la bilirubine. Ces paramètres biochimiques sont considérés comme des marqueurs de la fonction hépatique indiquant dans cette présente étude une perte de cette fonction que l'on considère comme étant une hépatotoxicité. Le niveau élevé de ces paramètres dans le plasma pourraient être la conséquence des dommages oxydatifs, et très souvent d'une nécrose hépatocyttaire qui est, bien entendu, associée à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique hépatique (**Duzguner and Erdogan, 2012**). Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus des travaux de recherche de **Hendawi et al. (2016)** suite au traitement des rats par 22.5 mg/kg de poids corporel de THI pendant 30 jours. Par ailleurs, l'administration de 0.21 mg /kg d'imidaclopride pendant 28 jours a induit l'augmentation de ces paramètres biochimique (AST, ALT, ALP) (**Mohany et al., 2011**). Concernant le niveau de la bilirubine, il a été constaté que dans cette présente étude, une élévation significative ($p < 0.05$) chez le groupe THI. Ces résultats concordent bien avec ceux obtenus par les travaux effectués récemment par **Vivek et Jain (2020)** après le traitement des rats par différents doses de THI, ainsi que les travaux de **Zheng et al. (2020)** qui ont enregistré une augmentation de ces indicateurs sériques de la fonction hépatique chez les rats recevant 20 mg /kg /jour d'imidaclopride. Dans cette étude, nous avons enregistré aussi une diminution du

taux des protéines totales, qui pourrait être expliquée par l'utilisation intensive des protéines pour débarrasser les cellules des métabolites toxiques et des ERON nécessitant une demande accrue d'énergie pour le processus de détoxification (**Jenkins and Smith, 2003**), ou encore cette diminution pourrait aussi être justifiée par une perte excessive par la néphrose (**Radwan et al., 2001**). La diminution du taux de protéines totales peut être due à leur dégradation et à l'utilisation possible des produits dégradés à des fins métaboliques ou à un dysfonctionnement hépatique donnant une carence dans la biosynthèse hépatique des protéines (**Vivek and Jain, 2020**).

3.3. Le gonflement et la perméabilité mitochondriale du foie

Dans les conditions de stress oxydatif, les mitochondries deviennent l'une des principales cibles des dommages causés par les ERON, qui peuvent induire des mutations dans l'ADN mitochondrial, altérer leurs systèmes de défense antioxydants, endommager la chaîne respiratoire mitochondriale, affecter la perméabilité membranaire ou influencer l'homéostasie du Ca^{2+} (**Guo et al., 2013**). Dans cette étude, nous avons enregistré une augmentation du gonflement et la perméabilité mitochondriale dans le foie chez les rats traités par le THI. Cette perméabilité est similairement constatée dans le cerveau des rats exposés aux néonicotinoïdes (**Gasmi et al., 2017 ; Annabi et al., 2019**).

3.4. Les paramètres de stress oxydatif dans le foie

L'exposition au THI pendant 3 mois montre une augmentation significative de l'activité enzymatique de CAT, ces résultats peuvent être expliqués par une surproduction des radicaux libres dans le foie (**Vieira et al., 2018**). Des résultats concordants ont été observés dans une étude menée par **Yardimci et al. (2014)**, où une augmentation de l'activité de la catalase a été enregistrée chez les rats exposés à une dose de 170 mg/kg d'imidaclopride pendant une période de 24 heures.

Les résultats de cette étude montrent une diminution significative également de l'activité de SOD dans le foie, cette diminution induit une surcharge d' H_2O_2 (**Dinkova-Kostova, 2002**). Des résultats similaires ont été enregistré par (**Kammoun et al., 2019**) qui ont révélé que l'administration de THI à une dose de 22,5 mg/kg pendant 30 jours entraînait une réduction significative de l'activité la SOD . De plus, les travaux de **Zhang et al. (2011)** ont également rapporté une diminution de l'activité de la SOD chez des souris mâles exposées à une dose de 30 mg/kg d'acétamipride pendant 36 jours.

Par ailleurs, l'analyse statistique des résultats montre une augmentation de taux de MDA dans le foie. Ces résultats indiquent la présence d'une peroxydation lipidique accrue au niveau de cet organe à cause du stress oxydatif, notamment les OH[•], conduisant à la perte de la structure et de la fonction de la membrane (**Zhang et al., 2011**). Ces résultats sont cohérente avec les travaux de (**Kammoun et al., 2019**) qui ont traité les rats avec une dose de 22.5 mg/kg de THI pendant 30 jours. Dans cette étude, lorsque l'extrait a été administré en association avec le THI, il a provoqué une réduction significative de la peroxydation lipidique par rapport aux rats traités par THI.

Les résultats de cette présente étude ont montré une diminution hautement significative de GSH, où ce tripeptide joue un rôle majeur dans le maintien de l'état redox intracellulaire et agit comme antioxydant potentiel en détoxifiant les xénobiotiques toxiques (**Kurutas, 2016**). Sa diminution pourrait être due à son utilisation accrue en réponse au stress oxydatif chez les rats traités par l'insecticide. En effet, la réduction de la défense antioxydante peut conduire à une génération excessive de radicaux libres (**Kidd, 2016 ; Ghorzi et al., 2017**). Des résultats similaires ont été obtenus similairement par des études plus récentes (**Kammoun et al., 2019**) après l'exposition des rats au 22.5 mg/kg de THI pendant 30 jours.

Concernant l'activité de GST, nous avons enregistré une augmentation significative de son activité, qui est considérée comme un outil bénéfique pour gérer les conditions de stress comme la production accrue des radicaux libres (**Iturburu et al., 2017**). Les mêmes résultats remarqués pour l'activité de GPX, où nous avons enregistré une augmentation de son activité hépatique, ceci pourrait contribuer à la prévention des dommages oxydatifs dans cet organe sous l'effet de cet insecticide (**Shukla et al., 2017**). Ces résultats sont similaires aux résultats des travaux ayant étudié le traitement des rats par 22.5 mg/kg de THI pendant 30 jours (**Kammoun et al., 2019**).

Le recrutement des enzymes antioxydantes endogènes pour éliminer les radicaux libres générés en permanence par les xénobiotiques augmentent intensivement en raison d'une induction, ou en cas d'une exposition chronique à ces toxiques, elles subissent une déplétion, ce qui entraîne des dommages oxydatifs (**Kalra et al., 1994**). Cela indique que le THI a un effet délétère sur le système antioxydant endogène par la génération des radicaux libres, alors que le co-traitement de l'EXT avec une dose de 50 mg/kg et le THI a amélioré de manière significative le statut antioxydant hépatique par rapport au groupe THI. On doit noter que des études ont présenté l'effet cyto-protecteur de la poudre des amandes amères des noix d'abricot, en l'occurrence les travaux de **Abdel-Rahman (2011)** et ceux de **Karabulut et al. (2014)** ont

montré une diminution des activités enzymatiques des AST et ALT. En outre, cette poudre a amélioré les activités des enzymes antioxydantes (SOD, CAT et GPX), et a augmenté également la teneur de GSH et diminué la teneur de MDA. De même, les travaux de **Dawod et Ahmed (2021)** ont montré que des différentes concentrations de poudre des amandes amères des noix d'abricot (1.5, 3 et 6g/kg) ont révélé une amélioration significative de GSH, de la GPx, de la SOD et de la CAT dans le tissu hépatique. Par ailleurs, le prétraitement des rats avec des extraits éthanoliques des amandes amères de *P. armeniaca* L. a empêché l'augmentation des paramètres de la fonction hépatique tels que ALT, AST) et de ALP mais sans effet sur la bilirubine directe totale. Le même extrait a montré également une diminution de MDA et une augmentation du niveau de GSH hépatique (**Ramadan et al., 2020**).

3.5. AChE

Les résultats de cette présente étude montrent une diminution significative de l'activité de l'AChE dans le foie, ces résultats peuvent être due à l'inhibition de cette enzymes par les néonicotinoïdes, qui ont capable de former des différent liaisons avec son site actif (**Teralli, 2018**). Ou à un dysfonctionnement hépatique donnant une carence dans la biosynthèse hépatique des protéines (**Vivek and Jain, 2020**). Ces résultats sont en désaccord avec les résultats de **Yardimci et al. (2014)**, qui ont enregistré une augmentation de l'activité d'AChE après une exposition des rats à l'imidaclopride à la dose de 170 mg/kg pendant 24 heures.

3.6. Ca⁺⁺ cytosolique

En ce qui concerne le Ca⁺⁺, nous avons enregistré une augmentation des niveaux de calcium cytosolique dans le lot traité par le THI. Le Ca²⁺ est un messager intracellulaire général qui contrôle pratiquement tous les aspects de la fonction cellulaire tels que le métabolisme, la transmission et la plasticité synaptiques, la transcription des gènes, la mort cellulaire programmée (**Kimura-Kuroda et al., 2012**), Par conséquent, l'augmentation des niveaux de Ca²⁺ dans le cytosol pourrait déclencher de multiples effets biochimiques dans la cellule comme la production des radicaux superoxydes (**Guo et al., 2013**). Certaines des études montrent que les néonicotinoïdes augmentent le taux de Ca⁺² dans les cellules neuronales (**Costas-Ferreira and Faro, 2021**).

3.7. Histologie de foie

Les résultats de l'étude histopathologique du foie montrent ; pour le groupe THI une dilatation des sinusoides hépatiques contenant des globules rouges avec désarroi des hépatocytes ; dégénérescence des hépatocytes avec quelques hépatocytes nécrotiques. Des résultats similaires

enregistrés par les travaux de **Kammoun et al. (2019)** après le traitement des rats par 22,5 mg/kg de THI pendant 30 jours. De plus les travaux de **Zheng et al. (2020)** qui montrent les mêmes résultats sur le foie après le traitement des souris par 20 mg/kg d'imidaclopride. Par ailleurs, **Vivek et Jain (2020)** ont montré les mêmes résultats après le traitement des rats par différentes doses de THI pendant 28 jours. Le foie des groupes traités par l'EXT montrent des tissus normaux comparables à ceux observés par les travaux de **Karabulut et al. (2014)** et les travaux de **Dawod et Ahmed (2021)** qui ont montré que le traitement des rats par la poudre des amandes amères de noix d'abricot réduit l'incidence des lésions hépatiques et améliorait l'anomalie des hépatocytes. Or, la présence de flavonoïdes, de caroténoïdes, de β -carotène, de composés phénoliques et d'acides gras tels que l'acide oléique et l'acide linoléique, pourrait avoir des effets de piégeage des radicaux libres et potentialiser leurs effets protecteurs (**Ramadan et al., 2020**).

- **Conclusion :**

L'évaluation de l'hépatotoxicité après une exposition chronique au THI a permis de noter les conclusions suivantes :

- Une augmentation de poids relatif du foie, et une perte de la fonction hépatique.
- Le THI a induit chez les rats adultes une perte de l'intégrité structurale et fonctionnelle des mitochondries des hépatocytes.
- Altération du système redox intra-mitochondrial produisant un stress oxydatif.
- Inhibition de l'activité estérasique hépatique.
- L'étude histologique du foie des rats adultes a montré des altérations histopathologiques sous forme de dilatations des sinusoides hépatiques, une congestion, un désarroi des hépatocytes et une dégénérescence nécrotiques des hépatocytes.
- L'administration de l'EXT en association avec le THI a montré un pouvoir cytoprotecteur et préventif du moment qu'il a empêché la survenue des anomalies structurales et fonctionnelles des cellules hépatiques chez les rats adultes.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

L'objectif de cette présente étude était l'évaluation des effets toxique de THI administré chroniquement avec un microdosage seul ou en association avec l'EXT via deux fenêtres d'exposition à savoir une exposition directe (active) des rats adultes et une exposition indirecte (passive) des rats adultes d'une progéniture (G1) des rates subissant une exposition pré et post-natale. Cette staratégie d'étude est basée sur une fenêtre d'exposition pré et pos-natale visant à mettre en évidence le niveau de sensibilité des animaux à la transmission gestationnelle et lactationnelle possible de la neurotoxicité de THI d'une part et l'exposition à cet insecticide à l'âge adultes de l'autre part.

Trois tissus sont ciblés par cette étude à savoir : deux régions sensibles du cerveau, striatum et l'hippocampe et le tissu hépatique. Le choix des deux régions cervicales est basé sur leur implication dans la plupart des fonctions cognitives et leur implication dans les maladies neurodégénératives (Alzheimer et Parkinson). Par ailleurs le choix du foie est suscité par son importance dans la biotransformation et la détoxifications des xénobiotiques.

Le choix de l'extrait est motivé par la production intense des abricots dans la région des Aures et son utilisation agro-industrielle est en croissance continue notamment dans la production de jus et de confiture. Une telle industrie produit des quantités industrielles des noix d'abricot comme sous-produit méritant une valorisation dans le domaine cosmétologique, alimentaire et pharmacologique.

Cette étude a permis l'obtention des résultats permettant de conclure les éléments suivants :

- En procédant à une exposition chronique des animaux au THI à une micro dose de 0.020 mg/kg/j c'est une simulation à la prise quotidienne de pesticides par la population humaine via les matrices alimentaires suivant une étude donc prospective et non rétrospective. Certes en doses traces mais vu l'effet cumulatif avec le temps, l'impact toxique pourrait se manifester sous forme de pathologies ou de syndromes pathologiques posant ainsi un problème crucial pour la santé publique. En effet, les résultats de cette étude a montré clairement que l'effet de cet insecticide a impacté le potentiel cognitif et neurocomportemental des rats, puisque il a limité plusieurs potentialités ayant trait avec la fonction neuronale, telles que la motricité, la mémorisation, l'apprentissage, ...sachant que la qualité de ces compétences se retiennent sur le comportement psychosociologique des populations exposées à ce xénobiotique.
- La perturbation de la fonction cognitive nous oriente dans cette étude directement vers l'évaluation organique (structurale et fonctionnelle) du striatum et de l'hippocampe soumis à

des différentes fenêtres d'exposition en l'occurrence l'exposition directe des rats adultes et la génération 1 issue des rates ayant été soumises à une exposition pré et post-natale. En effet, cette étude a ciblé l'évaluation de l'intégrité cellulaire et mitochondriale dans ces deux régions cérébrales. Les résultats de cette étude ont mis en évidence une forte perturbation du statut redox mitochondrial qui selon la littérature pourrait être la cause de gonflement et la perte de la perméabilité des membranes de cette organelle.

- L'entrée massive de l'eau lors du gonflement mitochondrial a permis l'externalisation du Cyt-c et le Ca^{2+} vers le compartiment cytosolique en quantité élevée. Ces deux éléments, selon les bases de données scientifique, sont considérés des proapoptotiques potentiels ayant pour rôle la maturation de la procaspase 9 avec le recrutement de l'Apaf, donnant ainsi une élévation cytosolique significative des caspases 9 et 3 susceptibles, respectivement, de déclencher et exécuter la voie apoptotique intrinsèque, laquelle voie est impliquée dans la dégénération des neurones que l'on a constatée dans l'étude histopathologique, d'où l'importance du choix des mitochondries dans cette présente étude.

- La fonction cholinergique est pour beaucoup dans l'équilibre neurocomportemental des animaux, sa perturbation implique un désordre cognitif pouvant impacter le neurodéveloppement tant organique que psychologique. L'analyse des résultats de cette étude a montré une diminution nette de l'activité estérasique impliquant, selon la littérature, une accumulation synaptique de l'acétylcholine qui active excessivement ses récepteurs donnant des perturbations de la fonction cholinergique, se traduisant partiellement par les différents désordres cognitifs mis en évidence dans cette étude.

Il faut noter que les deux fenêtres d'exposition ont donné qualitativement les mêmes effets neurotoxiques de THI chez les rats adultes, ce qui amène à dire que la transmission gestationnelle et/ou lactationnelle est possible de la neurotoxicité de THI à la progéniture G1.

- L'exploration de la fonction hépatique des rats adultes exposés chroniquement et directement au THI a révélé la perte de la fonction hépatique via les indicateurs sérique hépatofonctionnels.

Quant à l'intégrité des hépatocytes, les résultats ont révélé les mêmes aspects anormaux mitochondriaux constatés chez les mitochondries des régions cérébrales étudiées, tels que le déséquilibre redox en faveur du stress oxydatif, désordre des pores mitochondriaux responsable sur la perméabilité membranaire favorisant ainsi le gonflement.

- Mise à part l'évaluation de la neurotoxicité par les méthodes cognitives, l'étude histopathologique pourrait être une approche complémentaire aux méthodes biochimiques

appliquées sur l'étude des deux organes étudiés (cerveau et foie). En effet, l'étude histologique a renseigné sur l'intégrité cellulaire et histologique des deux organes indiquant des altérations tissulaires et cellulaire allant de désarroi et nécrose des hépatocytes avec congestion dans le foie, aux dégénérescences et agrégation des cellules gliales dans le cerveau.

- L'utilisation en prévention de l'extrait hydroalcoolique des amandes amères des noix d'abricot s'avère très bénéfique sur le plan pharmacologique étant donné qu'il a empêché les atteintes tant fonctionnelles que structurales des cellules du foie et celles des deux régions cérébrales étudiées. Ce potentiel cytoprotecteur et préventif revient probablement à la présence des composés phénoliques comme étant connus pour être des antioxydants et antiradicalaires.

Après les discussions des résultats et la conclusion générale et au vu des objectifs initialement tracés dans la problématique de cette thèse, il est apparu à chaque fois un manque d'informations indispensables pour mieux cerner la problématique posée. Ce manque fait appel nécessairement à certaines études à réaliser à l'avenir proche afin de constituer une base de données autour de cet axe de recherche concernant la toxicologie environnementale et la pharmacologie des substances naturelles. Les perspectives de recherche souhaitées et recommandées à être réalisées sont les suivantes :

- Etude de la toxicocinétique des néonicotinoïdes et leurs métabolites ainsi que leurs mécanismes d'actions notamment dans le cerveau.
- Etude des effets épigénétiques et génomiques des néonicotinoïdes (THI)
- La neurotoxicité transgénérationnelle (gestationnelle et lactationnelle).
- Analyse chimique profonde de la composition des différents extraits des amandes des noix d'abricot (HPLC-MS ou UPLC-MS,...), fractionnement et purification des principes actifs de ces extraits.
- Application des techniques de l'imagerie plus performantes (microscopie à fluorescence, microscopie confocale, ...).

Références

A

- Aamazadeh F, Ostadrahimi A, Saadat Y R, Barar J (2020) Bitter apricot ethanolic extract induces apoptosis through increasing expression of Bax/Bcl-2 ratio and caspase-3 in PANC-1 pancreatic cancer cells. *Molecular Biology Reports* 47(3):1895-1904
- Abbott , Nigussie (2020) "Adult neurogenesis in the mammalian dentate gyrus." *Anatomia, Histologia, Embryologia* 49 (1) : 3-16.
- Abd-Elhakim Y M, Mohammed H H, Mohamed WA (2018) Imidacloprid impacts on neurobehavioral performance, oxidative stress, and apoptotic events in the brain of adolescent and adult rats. *Journal of agricultural and food chemistry* 66(51):13513-13524
- Abdel-Rahman M K (2011) Can apricot kernels fatty acids delay the atrophied hepatocytes from progression to fibrosis in dimethylnitrosamine (DMN)-induced liver injury in rats?. *Lipids in health and disease* 10(1): 1-10
- Abou-Donia M B, Goldstein L B, Bullman S, Tu T, Khan W A, Dechkovskaia A M, et Abdel-Rahman A A (2008) Imidacloprid induces neurobehavioral deficits and increases expression of glial fibrillary acidic protein in the motor cortex and hippocampus in offspring rats following in utero exposure. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues* 71(2):119–130
- Abou-Donia M B, Goldstein L B, Jones K H, Abdel-Rehman A A, Damodran T V, Dechkovskaia A M, Bullman S L, Amir B E, and Khan W A (2001) Locomotor and sensorimotor performance deficit in rats following exposure to pyridostigmine bromide, DEET, and permethrin, alone and in combination. *Toxicol Sci* 60:305–314
- Abraham K, Buhke T, Lampen A (2016) Bioavailability of cyanide after consumption of a single meal of foods containing high levels of cyanogenic glycosides: a crossover study in humans. *Archives of toxicology*. 90(3): 559-574.
- Abubakar Y, Tijjani H, Egbuna C, Adetunji CO, Kala s, Kryeziu TL, Ifemeje JC, Patrick-iwuanyanwu KC (2020) Pesticides, History, and Classification. *Natural Remedies for Pest. Disease and Weed Control*. Elsevier.
- Achat S (2013) Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Thèse pour obtention doctorat en science. Bijaya, université A. mira, 261p
- Agellon L B (2008) Metabolism and function of bile acids. In *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes*. Elsevier 423-440
- Ahmad R, Teripathi TA, Tripathi P, Singh R, Singh S, Singh RK (2010) Studies on lipid peroxidation and non-enzymatic antioxidant status as indices of oxidative stress in patients with chronic myeloid leukaemia. *Singapore Med. J.* 51 (2):110–115
- Ahmed M A I, Vogel C F, Matsumura F (2015) Unique biochemical and molecular biological mechanism of synergistic actions of formamidine compounds on selected pyrethroid and neonicotinoid insecticides on the fourth instar larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 120: 57-63.
- Ahmed M B, Ahmed M I, Meki A R, AbdRaboh N (2013) Neurotoxic effect of lead on rats: Relationship to Apoptosis. *International Journal of Health Sciences*. 7(2):192.
- Ahmed SA Z (2020) Protective Effects of Palm Date and Apricot Kernels Powder in Carbon Tetra Chloride-Induced Liver Disorder in Rats (1)36. *مجلة الاقتصاد المنزلي*.:14-129
- Akashe M M, Pawade U V, Nikam A V (2018) Classification of pesticides: A review. *Int. J. Res. Ayurveda Pharm*, 9(4).

- Alarcan J, Waizenegger J, Solano M D L M, Lichtenstein D, Luckert C, Peijnenburg A, Braeuning A (2020) Hepatotoxicity of the pesticides imazalil, thiacloprid and clothianidin–Individual and mixture effects in a 28-day study in female Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology* 111306
- Alavanja M C, Hoppin J A, Kamel F (2004) Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity. *Annu. Rev. Public Health* 25 : 155-197
- Alberto EA (2020) Maladie d ' Alzheimer , inflammation et virus herpétiques.
- Alkam T, Kim HC, Hiramatsu M, Mamiya T, Aoyama Y, Nitta A, Nabeshima T (2013) Evaluation of emotional behaviors in young offspring of C57BL/6J mice after gestational and/or perinatal exposure to nicotine in six different time-windows. *Behav. Brain Res* 239, 80–89. doi: 10.1016/j.bbr.2012.10.058
- Almazroo O A, Miah M K, Venkataramanan R (2017) Drug metabolism in the liver. *Clinics in liver disease* 21(1): 1-20
- Alpaslan M, Hayta M (2006) Apricotkernel:physicalandchemicalproperties. *J Am Oil Chem Soc* 83:469–471
- Al-Sawalha N, Alzoubi K, Khabour O, Alyacoub W, Almahmmod Y, Eissenberg T (2018) Effect of prenatal exposure to waterpipe tobacco smoke on learning and memory of adult offspring rats. *Nicotine and Tobacco Research* 20(4): 508-514
- Álvarez-Diduk R, Galano A (2015) Adrenaline and noradrenaline: protectors against oxidative stress or molecular targets?. *The Journal of Physical Chemistry B* 119(8): 3479-3491
- Amany MB, Moustafa AAA, Manar HA. Antioxidant Activity and Defensive Role of Vitamin B-17 to Fight Cancer. 3(1). COJTS. 000556. 2020.
- Ameera OH, Imad HH, Huda J, Muhanned AK (2015) Determination of Alkaloid Compounds of Ricinus communis by gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS). *J. Med. Plants Res* 9(10):349-359*
- Amerman EC (2016) Human anatomy and physiology. US. Always learning.
- Anadón A, Ares I, Martínez M, Martínez-Larrañaga M R, Martinez M A (2020) Neurotoxicity of Neonicotinoids. In *Advances in Neurotoxicology*. Academic Press (4):167-207
- ANDEPITTE V J, ENGBAEK E, PIOT P, HEUK CC (1994) Bactériologie clinique: techniques de base pour le laboratoire O.M.S. Genève 62-64
- Anderson S E, Meade B J (2014) Potential health effects associated with dermal exposure to occupational chemicals. *Environmental health insights* 8 EHI-S15258.
- Annabi E, Ben Salem I, Abid-Essefi S (2019) Acetamiprid, a neonicotinoid insecticide, induced cytotoxicity and genotoxicity in PC12 cells. *Toxicol. Mech. Methods* 29: 580–586
- Antunes M, Biala G (2011) The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. *Cogn Process* 13(2): 93–110
- Aoun M, Tiranti V (2016) Mitochondria: a crossroads for lipid metabolism defect in neurodegeneration with brain iron accumulation diseases. *J Biochem Cell Biol*:01–018
- Ascherio A, Schwarzschild M A (2016) The epidemiology of Parkinson's disease: risk factors and prevention. *Lancet Neurol* 15: 1257-1272. doi:10.1016/S1474-4422(16)30230-7 (2016).
- Auwal MS, Saka S, Mairiga IA, Sanda KA, Shuaibu A , Ibrahim A(2014) Preliminary phytochemical and elemental analysis of aqueous and fractionated pod extracts of Acacia nilotica (Thorn mimosa). *Veterinary Research Forum* 5(2):95-100
- Aydin B (2011) Effects of thiacloprid, deltamethrin and their combination on oxidative stress in lymphoid organs, polymorphonuclear leukocytes and plasma of rats. *Pesticide biochemistry and physiology* 100(2): 165-171

- Babeřová J, řeřčíková Z, říkoř ř, řpírková A, Kovaříková V, Koppel J, Fabian D (2017) Exposure to neonicotinoid insecticides induces embryotoxicity in mice and rabbits. *Toxicology* 392: 71-80
- Badgujar P C, Jain S K, Singh A, Punia J S, Gupta R P, Chandratre G A (2013) Immunotoxic effects of imidacloprid following 28 days of oral exposure in BALB/c mice. *Environmental toxicology and pharmacology* 35(3): 408-418
- Bagri P, Jain SK (2019) Assessment of acetamiprid-induced genotoxic effects in bone marrow cells of Swiss albino male mice. *Drug and Chemical Toxicology* 42(4): 357-363
- Bagri P, Kumar V, Sikka A K (2015) An in vivo assay of the mutagenic potential of imidacloprid using sperm head abnormality test and dominant lethal test. *Drug and Chemical Toxicology* 38(3): 342-348
- Bahorun T, Gressier B, Trotin F, et al (1996) Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arznein Forsch/ Drug Res* 1-6
- Bal R, Nazirođlu M, Türk G, Yilmaz Ö, Kulođlu T, Etem E, Baydas G (2012) Insecticide imidacloprid induces morphological and DNA damage through oxidative toxicity on the reproductive organs of developing male rats. *Cell biochemistry and function* 30(6): 492-499
- Balamurugan V, Fatima S, Velurajan S (2019) A guide to phytochemical analysis. *International Journal of Advance Research and Innovative Ideas in Education* 5(1): 236-245
- Baltazar M T, Dinis-Oliveira R J, de Lourdes Bastos M, Tsatsakis A M, Duarte JA, Carvalho F (2014) Pesticides exposure as etiolođical factors of Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases-A mechanistic approach. *Toxicology Letters* 230(2): 85-103
- Barker GR, Warburton EC (2011) When is the hippocampus involved in recognition memory?. *J. Neurosci* 31: 10721-10731
- Barriuso E (2004) Estimation des risques environnementaux des pesticides. Editions INI 12-34pp
- Batandier C, Leverve X, Fontaine E (2004) Opening of the mitochondrial permeability transition pore induces reactive oxygen species production at the level of the respiratory chain complex I. *Journal of Biological Chemistry* 279(17): 17197-17204.
- Beauchamp C, Fridovich I (1971) Superoxide dismutase: improved assay sandan assay applicable to acrylamide gels. *Biochemist* 44:276- 287
- Beausir A, Kim I, Séguy D, Michaud L, Lannoy D (2011) Les micronitriments en nutrition parentérale. *Le Moniteur Hospitalier* 238: 15- 28
- Beghoul A, Kebieche M, Gasmi S, Chouit Z, Amiour C, Lahouel A, Lakroun Z, Rouabhi R, Fetoui H, Soulimani R (2017) Impairment of mitochondrial integrity and redox status in brain regions during a lowdose long-term exposition of rats to pyrethrinoids: the preventive effect of quercetin. *Environ Sci Pollut Res* Doi : 10.1007/s11356-017-9675
- Belfekih F et al., (2017) Screening phytochimique d'arbutus unedo l. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, ISSN 2429-5396
- Belyagoubi N (2011) Activité antioxydante des extraits des composes phenolique de dix plantes medicinales de l'Ouest et de Sud-ouest Algerien, Thèse presente pour l'obtention de grade de doctor en biologie .
- Ben-Ari Y (2007) Le GABA-Un transmetteur pionnier pour la construction du cerveau. *médecine/sciences* 23(8-9) : 751-755.
- Benarroch E E (2018) Glutamatergic synaptic plasticity and dysfunction in Alzheimer disease: emerging mechanisms. *Neurology* 91: 125-132
- Benedetti A, Bassotti C, Rapino k, Marucci l, Jezequel A M (1996) A morphometric study of the epithelium lining the rat intrahepatic biliary tree. *Journal of hepatology* 24: 335-342

- Bennett B, Workman T, Smith M N, Griffith W C, Thompson B, Faustman E M (2020) Characterizing the neurodevelopmental pesticide exposome in a children's agricultural cohort. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17(5): 1479
- Berke J D (2018) What does dopamine mean?. *Nature neuroscience* 21(6): 787-793
- Bernardi P, Scorrano L, Colonna R, Petronilli V, Di Lisa F (1999) Mitochondria and cell death: mechanistic aspects and methodological issues. *European Journal of Biochemistry* 264(3): 687-701
- Bernardi R P, Colonna P, Costantini O, Eriksson E, Fontaine F, Ichas S, Massari A, Nicolli V, Petronilli L, Scorrano (1998) The mitochondrial permeability transition. *Biofactors* 8 : 273
- Bessaguet F, Desmoulière A (2021) Le foie. *Actualités Pharmaceutiques*, 60(605), 57-61
- Bhardwaj S, Srivastava M K, Kapoor U, Srivastava L P (2010) A 90 days oral toxicity of imidacloprid in female rats: morphological, biochemical and histopathological evaluations. *Food and chemical toxicology* 48(5): 1185-1190
- Blaheta R A, Nelson K, Haferkamp A, Juengel (2016) Amygdalin, quackery or cure?. *Phytomedicine* 23(4): 367-376
- Blanc J F P, Bioulac-Sage P, Rosenbaum J (1997) Stellate cells of the liver and hepatic fibrogenesis. *Gastroenterol Clin Biol* 21(11): 869-879
- Blandine G (2006) Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la glisodin. These de doctorat Université Joseph Fourier. 10p.
- Blottière E (2020) L'impact des néonicotinoïdes sur les abeilles et leurs alternatives.
- Boizot N, charpentier J (2006) Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des techniques de L'INRA, Numéro spécial 2006 : Méthodes et outils pour l'observation des milieux forestiers, Prairiaux et aquatiques* 79-82
- Bolarinwa I F, Orfila C, Morgan M R (2014) Development and application of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the quantification of amygdalin, a cyanogenic glycoside, in food. *Journal of agricultural and food chemistry* 62(27): 6299-6305
- Bor C, Morel E, Codogno P, Dupont N (2019) Réponse autophagique sous stress mécanique dans les cellules de la macula densa de l'appareil juxta-glomérulaire. *Néphrologie & Thérapeutique* 15(5): 297
- Bossen C, Ingold K, Tardivel A, Bodmer JL, Gaide O, Hertig S, Ambrose C, Tschopp J, Schneider P (2006) Interactions of tumor necrosis factor (TNF) and TNF receptor family members in the mouse and human. *J Biol Chem* 281(20): 13964-71.
- BOUABID J (2018) Biopsie rénale dans la région d'Agadir Indications et résultats (A propos de 70 cas) (Doctoral dissertation, Thèse]. Marrakech: Université de Marrakech).
- Bouet V, Freret T, Dutar P, Billard JM, Boulouard M (2011) Continuous enriched environment improves learning and memory in adult NMRI mice through theta burst-related-LTP independent mechanisms but is not efficient in advanced aged animals. *Mech. Ageing Dev* 132: 240-248
- Bradford MA (1976) Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein - dye binding. *Anal. Biochem* 72:248-254
- Brem A, Ran K, Pascual-leone A (2013) Learning and memory. In *Brain Stimulation* (1st ed., Vol. 116). Elsevier B.V.
- Brenner D, Mak TW (2009) Mitochondrial cell death effectors. *Curr Opin Cell Biol* 21(6): 8717
- Brochier C (2007) Analyse des transcriptomes du cerveau de souris: mise en évidence de patrons régionaux d'expression conservés chez l'homme et altérés dans des modèles de maladies neurodégénératives (Doctoral dissertation, Université Paris Sud-Paris XI).

- Brooks S P, Dunnett S B (2009) Tests to assess motor phenotype in mice: a user's guide. *Nature Reviews Neuroscience* 10(7): 519-529
- Bruneton J (1999) *Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales*. 3^{ème}éd. Paris Tec&Doc Lavoisier, 1120 p
- Burke A P, Niibori Y, Terayama H, Ito M, Pidgeon C, Arsenault J, Hampson D R (2018) Mammalian susceptibility to a neonicotinoid insecticide after fetal and early postnatal exposure. *Scientific reports* 8(1): 1-13
- Burtis C, Ashwood E, Bruns D (2005) *Tietz textbook of clinical chemistry*. 4th ed. Washington, DC : Saunders.
- Burton A C, Nakamura K, Roesch M R (2015) From ventral-medial to dorsal-lateral striatum: Neural correlates of reward-guided decision-making. *Neurobiology of Learning and Memory* 117: 51–59
- Buszewski B, Bukowska M, Ligor M, Staneczko-Baranowska I (2019) A holistic study of neonicotinoids neuroactive insecticides—properties, applications, occurrence, and analysis. *Environmental Science and Pollution Research* 1-18
- Butterfield DA, Koppal T, Howard B, Subramaniam R, Hall N, Hensley K, Yatin S, Allen K, Aksenov M, Aksenova M, Carney J (1998) Structural and functional changes in proteins induced by free radical mediated oxidative stress and protective action of the antioxidants N-tert-butyl-alpha-phenylnitron and vitamin E, *Ann. N. Y. Acad. Sci* 854 : 448–462
- C**
- Cain K, Bratton SB, Cohen GM (2002) The Apaf-1 apoptosome: a large caspase-activating complex. *BIOCHIMIE* 84(2): 203–14.
- Calvet R (2005) *Les pesticides dans le sol : conséquences agronomiques et environnementales*. France agricole éditions.
- Calvino B (2011) Les cellules gliales: Leur rôle dans la douleur chronique. *Douleurs* 12(6) : 299–303
- Cambier J, Masson M, Dehen H, Masson C (2008) *Neurologie*. 12^{ème} edition. Elsevier Masson. 540pp
- Campbell K (2005) Cortical neuron specification: it has its time and place. *Neuron* 2005, 46:373-376
- Carletti , Rossi (2008) "Neurogenesis in the cerebellum." *The Neuroscientist* 14 (1): 91-100
- Carobrez A P, Bertoglio L J (2005) Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 29(8): 1193-120
- Casida J E (2011) Neonicotinoid metabolism: compounds, substituents, pathways, enzymes, organisms, and relevance. *Journal of agricultural and food chemistry* 59(7): 2923-2931
- Cervellati C, Romani A, Seripa D, Cremonini E, Bosi C, Magon S, Bergamini CM, Valacchi G, Pilotto A, Zuliani G(2014) Systemic oxidative stress and conversion to dementia of elderly patients with mild cognitive impairment. *BioMed Res. Int.* 2014, 2014, 309507
- Cha H Y, Park J H, Hong J T, Yoo H S, Song S, Hwang B Y, Eun JS, Oh K W (2005) Anxiolytic-like effects of ginsenosides on the elevated plus-maze model in mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 28(9): 1621-1625
- Chade A R (2013) Renal vascular structure and rarefaction. *Comprehensive Physiology* 3(2) : 817
- Chandra S, Chatterjee P, Dey P, Bhattacharya S (2012) Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pac J Trop Biomed* 2(1): S178-S80
- CHANG H K, YANG H Y, LEE T H, SHIN M C, LEE M H, SHIN M S, KIM C J, KIM O J, HONG S P, CHO S (2005) Armeniacae semen extract suppresses lipopolysaccharide-induced expressions of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in mouse BV2 microglial cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 28(3): 449- 454

- Chang YT, Chang WN, Tsai NW, Huang CC, Kung CT, Su YJ, Lin WC, Cheng BC, Su CM, Chiang YF, Lu CH (2014) The Roles of Biomarkers of Oxidative Stress and Antioxidant in Alzheimer's Disease: A Systematic Review. *BioMed Res. Int.* 2014, 2014 1–14
- Chanwitheesuk A Teerawutgulragand A .Rakariyatham (2005) Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand, *Food Chem* 92 : 491–497
- Cheab D, El Darra N, Rajha H N, Ghazzawi I E, Maroun R G, Louka N (2018) Biological activity of apricot byproducts polyphenols using solid–liquid and infrared-assisted technology. *Journal of Food Biochemistry* 42(5): e12552
- Cheeta S, Irvine E E, Kenny PJ, File SE (2001) The dorsal raphe nucleus is a crucial structure mediating nicotine's anxiolytic effects and the development of tolerance and withdrawal responses. *Psychopharmacology* 155:78
- Chen H, Huang X, Guo X, Mailman R B, Park Y, Kamel F, Blair A (2010) Smoking duration, intensity, and risk of Parkinson disease. *Neurology* 74(11): 878-884
- Chen M, Tao L, McLean J, Lu C (2014) Quantitative analysis of neonicotinoid insecticide residues in foods: implication for dietary exposures. *Journal of agricultural and food chemistry* 62(26): 6082-6090
- Chen Y (2014) Effect of Amygdalin on the Action of Myocardial Hypertrophy Induced by Isoproterenol in Rats. University of Yanbian, Jilin.
- Chen Y, Al-Ghamdi AA, Elshikh MS, Shah MH, Al-Dosary MA, Abbasi AM (2020) Phytochemical profiling, antioxidant and HepG2 cancer cells' antiproliferation potential in the kernels of apricot cultivars. *Saudi Journal of Biological Sciences* 27(1): 163-172. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.06.013>.
- Chen Y, Al-Ghamdi AA, Elshikh MS, Shah MH, Al-Dosary MA, Abbasi AM (2019) Phytochemical profiling, antioxidant and HepG2 cancer cells' antiproliferation potential in the kernels of apricot cultivars. *Saudi Journal of Biological Sciences* 27(1):163-172
- Cheng Y, Yang C, Zhao J, Tse HF, and Rong J (2015) Proteomic identification of calcium-binding chaperone calreticulin as a potential mediator for the neuroprotective and neurotogenic activities of fruit-derived glycoside amygdalin. *J. Nutr. Biochem* 26: 146-54
- Chin-Chan M, Navarro-Yepes J, Quintanilla-Vega B (2015) Environmental pollutants as risk factors for neurodegenerative disorders: Alzheimer and Parkinson diseases. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9(APR) 1–22
- Choi S, Saxena N, Dhammu T, Khan M, Singh AK, Singh I, Won J (2018) Regulation of endothelial barrier integrity by redox-dependent nitric oxide signaling: Implication in traumatic and inflammatory brain injuries. *Nitric Oxide Biol Chem* 1(83): 51-64
- Choleris E, Thomas A W, Kavaliers M, Prato F S (2001) A detailed ethological analysis of the mouse open field-test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. *Neuroscience et Biobehavioral Reviews* 25(3): 235-260
- Chouit Z, Djellal D, Haddad S, Hanfer M, Hachemi M, Lakroun Z, Chafaa S, Fetoui H, Kebieche M, Soulimani R. (2020). Potentiation of the apoptotic signaling pathway in both the striatum and hippocampus and neurobehavioral impairment in rats exposed chronically to a low-dose of cadmium. *Environmental Science and Pollution Research*. 28(3), 3307–3317. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10755-7>
- Cimino A M, Boyles A L, Thayer K A, Perry M J (2017) Effects of neonicotinoid pesticide exposure on human health: a systematic review. *Environmental health perspectives* 125(2): 155-162
- Claiborne A (1985) Catalase Activity: In Greenwald R.A. (Ed.), *Handbook of Methods in Oxygen Radical Research*. CRC Press, Boca Raton, FL 283–284
- Collie A, Maruff P (2000) The neuropsychology of preclinical Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 24(3): 365-374

- Comhair S A, Erzurum S C (2002) Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 283(2): L246-L255
- Cortese B M, Phan K L (2005) The role of glutamate in anxiety and related disorders. *CNS spectrums* 10(10) : 820-830
- Corti O, Hampe C, Darios F, Ibanez P, Ruberg M, Brice A (2005) Parkinson's disease: from causes to mechanisms. *Comptes rendus biologies* 328(2): 131-142
- Costa L G, Giordano G, Guizzetti M, Vitalone A (2008) Neurotoxicity of pesticides : a brief review. *Front Biosci* 13(4): 1240-1249
- Costas-Ferreira C, Faro LRF (2021) Neurotoxic Effects of NeonicotinoidsonMammals: WhatIs There beyond the Activation of Nicotinic Acetylcholine Receptors? —ASystematicReview. *Int. J.Mol. Sci* 22: 8413. [https://doi.org/ 10.3390/ijms22168413](https://doi.org/10.3390/ijms22168413)
- Crick F, Koch C (1995) Are we aware of neural activity in primary visual cortex? *Nature*, 375(6527): 121-123
- Crompton M (2000) Bax, Bid and the permeabilization of the mitochondrial outer membrane in apoptosis. *Current opinion in cell biology*, 12(4): 414-419
- Czajka A R K A D I U S Z (2006) Wolne rodniki tlenowe a mechanizmy obronne organizmu. *Nowiny Lekarskie* 75(6): 582-586
- D**
- Dajas F, Rivera F, Blasina F, Arredondo F, Echeverry C, Lafon L, Morquio A, and Heizen H (2003) Cell culture protection and in vivo neuroprotective capacity of flavonoids. *Neurotox. Res.* 5: 425
- Damalas C A, Koutroubas S D (2016) Farmers’ exposure to pesticides: toxicity types and ways of prevention. *Toxics* 4(1):1
- Danglot L, Triller A, Marty S (2006) The development of hippocampal interneurons in rodents.*Hippocampus* 16(12):1032-60
- Das, S., Gautam, N., Dey, S. K., Maiti, T., & Roy, S. (2009). Oxidative stress in the brain of nicotine-induced toxicity: protective role of *Andrographis paniculata* Nees and vitamin E. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 34(2), 124-135.
- Dawod, B. K., & Ahmed, M. A (2021) Evaluation various doses of apricot kernels effect on antioxidant system and hepatic tissue in female albino rats. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology* 25(6), 1694-1701
- De Calignon A, Polydoro M, Suárez-Calvet M, William C, Adamowicz D H, Kopeikina K J, Hyman B T (2012) Propagation of tau pathology in a model of early Alzheimer's disease. *Neuron* 73(4): 685-697
- Deacon BJ (2013) The Biomedical Model of Mental Disorder: A Critical Analysis of Its Validity, Utility, and Effects on Psychotherapy Research. *Clin Psychol Rev* 33(7) :846-61. doi: 10.1016/j.cpr.2012.09.007
- Defraigne J O, Pincemail J (2008) Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Revue médicale de Liège* 63 :10-19
- Dehorter N, Michel FJ, Marissal T, Rotrou Y, Matrot B, Lopez C, Humphries MD, Hammond C (2011) Onset of pup locomotion coincides with loss of NR2C/Dmediated cortico-striatal EPSCs and dampening of striatal network immature activity. *Frontiers in cellular neuroscience* 5:24
- Dehorter N, Vinay L, Hammond C, Ben-Ari Y (2012) Timing of developmental sequences in different brain structures: physiological and pathological implications: brain developmental sequences in health and disease. *Eur. J. Neurosci* 35: 1846–1856. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2012.08152.x>.
- Del Río J A, Heimrich B, Borrell V, Förster E, Drakew A, Alcántara S, Soriano E (1997) A role for Cajal–Retzius cells and reelin in the development of hippocampal connections. *Nature* 385(6611) : 70-74
- Desmoulière, Bessaguet F (2020) les reins. *actualites-pharmaceutiques*. EMC. Paris: Elsevier Masson,59(595-596) : 57-60.<https://doi.org/10.1016/j.actpha.2020.03.017>

- Desquiret V (2008) Mitochondrie et stress énergétique: voies de signalisation et adaptations cellulaires (Doctoral dissertation, Université d'Angers).
- Devi L, Raghavendran V, Prabhu B M, Avadhani N G, Anandatheerthavarada H K (2008) Mitochondrial import and accumulation of alpha-synuclein impair complex I in human dopaminergic neuronal cultures and Parkinson disease brain. *The Journal of biological chemistry* **283**: 9089-9100. doi:10.1074/jbc.M710012200 (2008).
- Dhouib I B, Annabi A, Doghri R, Rejeb I, Dallagi Y, Bdiri Y, Gati A (2017) Neuroprotective effects of curcumin against acetamiprid-induced neurotoxicity and oxidative stress in the developing male rat cerebellum: biochemical, histological, and behavioral changes. *Environmental Science and Pollution Research* **24**(35) : 27515-27524
- Dice JF (2007) Chaperone-mediated autophagy. *Autophagy* **3**(4): 295–9
- Dick F D, De Palma G, Ahmadi A, Scott N W, Prescott G J, Bennett J, Felice A (2007) Environmental risk factors for Parkinson's disease and parkinsonism: the Geoparkinson study. *Occupational and environmental medicine* **64**(10): 666-672
- Dickson D W, Braak H, Duda J E (2010) Neuropathological assessment of Parkinson's disease: refining the diagnostic criteria (vol 8, pg 1150, 2009). *LANCET NEUROLOGY*,**9**(2): 140-140
- Ding L, Ding Y N, Lin Y, Wen J M, Xue L (2014) "Proteins related to early changes in carcinogenesis of hepatic oval cells after treatment with methylnitrosoguanidine." *Exp Toxicol Pathol* **66**(2-3): 139-146
- Dinkova-Kostova AT (2002) Protection against cancer by plant phenyl propenoids: induction of mammalian anticarcinogenic enzymes. *Mini Rev Med Chem* **2**:595–610
- Doltade S, Lonare M, Raut S, Telang A (2019) Evaluation of acetamiprid mediated oxidative stress and pathological changes in male rats: ameliorative effect of curcumin. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences* **89**(1): 191-199
- Domitrović R, Potočnjak I (2016) A comprehensive overview of hepatoprotective natural compounds: mechanism of action and clinical perspectives. *Archives of toxicology* **90**(1): 39-79
- Donzo M, Sarr A, Diop M, Sam B, Bassene E, Barrym S (2015) Dosage des flavonoïdes totaux et détermination du pouvoir antioxydant dans l'extrait brut des écorces de tronc d'Uapacatogoensis (Aub. Et Léan.) Pax. *EIWahat pour les Recherches et les Etudes* **8**(1) : 11 – 18. ISSN : 1112 -7163
- Dooley S, Ten Dijke P (2012) TGF-β in progression of liver disease. *Cell and tissue research* **347**(1): 245-256
- Drake K, Nehus E, Goebel J (2015) Hyponatremia, hypo-osmolality, and seizures in children early post-kidney transplant. *Pediatric transplantation* **19**(7): 698-703
- Du H, Guo L, Zhang W, Rydzewska M, Yan S (2011) Cyclophilin D deficiency improves mitochondrial function and learning/memory in aging Alzheimer disease mouse model. *Neurobiology of aging* **32**(3): 398-406
- Dubois B, Pillon B (1997) Cognitive deficits in Parkinson's disease. *J Neurol* **244** (1): 2-8
- Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, Rebers P T, Smith F (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry* **28**(3): 350-356
- Duchen M R (2000) Mitochondria and calcium: from cell signalling to cell death. *The Journal of physiology* **529**(1): 57-68
- Duchen M R (2004) Roles of mitochondria in health and disease. *Diabetes* **53**(1): S96-S102
- Dundee J W, Pandit S K (1972) Anterograde amnesic effects of pethidine, hyoscine and diazepam in adults. *British Journal of Pharmacology* **44**(1) : 140
- Duranton C, Jeannin S, Bedossa T, Gaunet F (2017) La mémoire autobiographique / épisodique : le chien , un modèle d ' étude ?.*médecine/sciences*, **33**(12) : 1089-1095

- Dusek P, Roos P, Litwin T, Schneider S, Flaten T, Aaseth J (2015) The neurotoxicity of iron, copper and manganese in Parkinson's and Wilson's diseases. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 31 : 193-203
- Duzguner V, Erdogan S (2012) Chronic exposure to imidacloprid induces inflammation and oxidative stress in the liver and central nervous system of rats. *Pestic Biochem Physiol* 104:58-64
- E**
- Easton A, Douchamps V, Eacott M, Lever C (2012) A specific role for septohippocampal acetylcholine in memory?. *Neuropsychologia* 50(13): 3156-3168
- EC (2014) Regulation (EU) No 528/2012 concerning the making available on the market and use of biocidal products. Evaluation of active substances. Assessment Report. Clothianidin Product-type 18 (Insecticides, Acaricides and Products to control other Arthropods).
- EC (2018) Competent authority report of active substance acetamiprid evaluated by Belgium concerning the making available on the market and use of biocidal product. <https://echa.europa.eu/es/information-on-chemicals/biocidal-active-substances/-/disas/factsheet/1235/PT18>
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM) (2016) Acute health risks related to the presence of cyanogenic glycosides in raw apricot kernels and products derived from raw apricot kernels. *Efsa Journal* 14(4): e04424
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). (2016). Acute health risks related to the presence of cyanogenic glycosides in raw apricot kernels and products derived from raw apricot kernels. *Efsa Journal* 14(4): e04424.
- EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR) (2013) Scientific Opinion on the developmental neurotoxicity potential of acetamiprid and imidacloprid. *EFSA Journal* 11(12) : 3471
- Eftekharzadeh B, Daigle J G, Kapinos L E, Coyne A, Schiantarelli J, Carlomagno Y, Hyman B T (2018) Tau protein disrupts nucleocytoplasmic transport in Alzheimer's disease. *Neuron* 99(5): 925-940
- El Bahri A, Chafiki J, Louardi N, Jendouzi O, Janane A, Ameer A, Abbar M (2017) Carcinome du tube collecteur de Bellini: une nouvelle observation avec revue de la littérature. *Pan African Medical Journal* 27(1).
- EL-Gendy KS, Aly NM, Mahoud FH, Kenawy A, EL-Sebae AH (2010) The role of vitamin C as an antioxidant in protection of oxidative stress induced by imidacloprid. *Food and Chemical Toxicology* 48: 215-221
- Ellman GL (1959) Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 74: 214-226
- Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM (1961) A new and rapid colorimetric determination of acetylcholine esterase activity. *Biochemical Pharmacology* 7(2): 88-95
- Elmore S (2007) Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol* 35(4): 495–516.
- Ensley S M (2018) Neonicotinoids. In *Veterinary toxicology*. Academic Press. (pp. 521-524).
- Environmental Protection Agency (2002b). Data evaluation record for YRC2894 (Thiacloprid): developmental neurotoxicity study – rat; DP Barcode D281298;TXR#0050517.
- Ergorul C, Eichenbaum H (2004) The hippocampus and memory for “what,”“where,” and “when”. *Learning & Memory* 11(4): 397-405
- Eriksson P, Fischer C, Stenerlow B, Fredriksson A, Sundell-Bergman S (2010) "Interaction of gamma-radiation and methyl mercury during a critical phase of neonatal brain development in mice exacerbates developmental neurobehavioural effects." *Neurotoxicology* 31(2) : 223 229
- European Food Safety Authority (EFSA) (2011) Guidance on Default assumptions used by the EFSA Scientific Panels and Committee, and EFSA Units in the absence of actual measured data 1-30

- European Food Safety Authority (EFSA), Abdourahime, H., Anastassiadou, M., Arena, M., Auteri, D., Barmaz, S., & Villamar-Bouza, L (2019) Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance thiacloprid. *EFSA journal*, 17(3), e05595.
- European Food Safety Authority (EFSA), Crivellente F, Hart A, Hernandez- Jerez A F, Hougaard Bennekou S, Pedersen R, Mohimont L (2019) Establishment of cumulative assessment groups of pesticides for their effects on the nervous system. *Efsa Journal* 17(9) : e05800
- F**
- Fang YZ, Yang S, Wu G (2002) Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 18: 872-879. doi:10.1016/S0899-9007(02)00916-4
- Farag M R, Abou-EL Fotoh M F, EL-Sayed G G, EL-Sayed E W (2019) Modulatory Effect of Ginger Aqueous Extract against Imidacloprid-Induced Neurotoxicity in Rats. *Zagazig Veterinary Journal* 47(4) : 432-446
- Farag M R, Alagawany M, Moselhy A A, Said E N, Ismail T A, Di Cerbo A, Ahmed M M (2022) The Neonicotinoid Thiacloprid Interferes with the Development, Brain Antioxidants, and Neurochemistry of Chicken Embryos and Alters the Hatchling Behavior: Modulatory Potential of Phytochemicals. *Biology* 11(1): 73
- Farag MR, Khalil SR, Zagloul AW, Hendam BM, Moustafa AA, Cocco R, Di Cerbo A, Alagawany M (2021) Thiacloprid Induced Developmental Neurotoxicity via ROS-Oxidative Injury and Inflammation in Chicken Embryo: The Possible Attenuating Role of Chicoric and Rosmarinic Acids. *Biology* 10 : 1100. <https://doi.org/10.3390/biology10111100>
- Favier A (2003) Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique* 108-115
- Femenia AC, Rossello A, Mulet, Canellas J (1995) Chemical composition of bitter and sweet apricot kernels, *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 43:356-361
- Fenster CP, Rains MF, Noerager B, Quick MW, Lester RA (1997) Influence of subunit composition on desensitization of neuronal acetylcholine receptors at low concentrations of nicotine. *J. Neurosci.* 1997 17: 5747–5759
- Finucane DM, Bossy-Wetzel E, Waterhouse NJ, Cotter TG, & Green D R (1999) Bax-induced caspase activation and apoptosis via cytochrome c release from mitochondria is inhibitable by Bcl-xL. *J. Biol. Chem* 274: 2225–2233
- Fishell G, Van Der Kooy D (1991) Pattern formation in the striatum: neurons with early projections to the substantia nigra survive the cell death period. *J. Comp. Neurol* 312: 33–42. <https://doi.org/10.1002/cne.903120104>.
- Flames N, Marin O (2005) Developmental mechanisms underlying the generation of cortical interneuron diversity. *Neuron* 2005, 46:377-381
- Floege J, Johnson R J, Feehally (2010) *Comprehensive clinical nephrology* E-book. Elsevier Health Sciences.
- Flohe , Gunzler (1984) Analysis of glutathione peroxidase, *Methods Enzymol* 105: 114-121
- Forest M, Martin L (2007) *Principe d'anatomie et de physiologie*. Copyright édition du renouveau Pédagogique, Inc. Canada P1075-1117
- Fourcade O, Geeraerts T, Minville V, Samii K (2014) *Traité d'anesthésie et de réanimation*. 4^{ème} édition. Edition Lavoisier. Paris P 47- 49
- Fowler C D, Liu Y, Ouimet C, Wang Z (2002) The effects of social environment on adult neurogenesis in the female prairie vole. *Journal of neurobiology* 51(2): 115-128
- Fridovich I (1995) Superoxide radical and superoxide dismutase. *Annual review of biochemistry* 64(1) : 97-112

- Frih H, Djenidi R, Ali Rachedi B, Frih N, Tahraoui A, Bairi A M (2010) Le kétoconazole antagonise les effets immuno-gonadotropes au test de la nage forcée chez le rat mâle Wistar. *Canadian journal of physiology and pharmacology* 88(7): 733-744
- Fuentealba LC, Rompani SB, Parraguez JI, Obernier K, Romero R, Cepko CL, Alvarez-Buylla A (2015) Embryonic origin of postnatal neural stem cells. *Cell* 161(7):1644–1655. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.05.041>
- G**
- Gage FH (2000) Mammalian neural stem cells. *Science* 287: 1433-9
- Galdíková M, Holečková B, Šivíková K, Schwarzbacherová V, Koleničová S (2019) Evaluating the genotoxic damage in bovine whole blood cells in vitro after exposure to thiacloprid. *Toxicology in Vitro* 61: 104616
- Galdíková M, Šivíková K, Holečková B, Dianovský J, Drážovská M, Schwarzbacherová V (2015) The effect of thiacloprid formulation on DNA/chromosome damage and changes in GST activity in bovine peripheral lymphocytes. *Journal of Environmental Science and Health Part B* 50(10): 698-707
- Gasmi S, Chafaa S, Lakroun Z, Rouabhi R, Touahria C, Kebieche M, Soulimani R (2019) Neuronal apoptosis and imbalance of neurotransmitters induced by acetamiprid in rats. *Toxicology and Environmental Health Sciences* 11(4): 305-311
- Gasmi S, Kebieche M, Rouabhi R, Touahria C, Lahouel A, Lakroun, Z, Soulimani R (2017) Alteration of membrane integrity and respiratory function of brain mitochondria in the rats chronically exposed to a low dose of acetamiprid. *Environmental science and pollution research* 24(28): 22258-22264
- Gasmi S, Rouabhi R, Kebieche M, Boussekine S, Salmi A, Toualbia N, Taib Ch, Bouteraa Z, Chenikher H, Henine S, Djabri B (2017) Effects of Deltamethrin on striatum and hippocampus mitochondrial integrity and the protective role of Quercetin in rats. *Environmental Science and Pollution Research* 24(19): 16440-16457
- Gasmi S, Rouabhi R, Kebieche M, Salmi A, Boussekine S, Toualbia N, Taib C, Henine S, Bouteraa Z, Djabri B (2016) Neurotoxicity of acetamiprid in male albino rats and the opposite effect of quercetin. *Biotechnol Ind J* 12(7):113
- Gendler S (1976) γ -GT. In: Kaplan A et al. *Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton* 1120-1123
- Ghorzi, H., Merzouk, H., Hocine, L., & Merzouk, S. A (2017) Long term biochemical changes in offspring of rats fed diet containing alpha-cypermethrin. *Pesticide biochemistry and physiology* 142, 133-140
- Giorgi C, Baldassari F, Bononi A, Bonora M, De Marchi E, Marchi S, Missiroli S, Patergnani S, Rimessi A, Suski J M, Wiechouski MR, Pinton P (2012) Mitochondrial Ca²⁺ and apoptosis. *Cell Calcium* 52: 36–43
- Godin Ribuot D (2012) Le néphron et la circulation rénale. *Physiologie rénale. Université joseph fourier. Www. medatice. com.*
- Goetz P (2011) Actualités en phytothérapie. *Phytothérapie* 9 :189–91
- Goldstein DS (2010) Adrenaline and noradrenaline. eLS.
- Gomez S D, Bustos P S, Sánchez V G, Ortega M G, Guíñazú N (2020) Trophoblast toxicity of the neonicotinoid insecticide acetamiprid and an acetamiprid-based formulation. *Toxicology* 431: 152-363
- Goodman AA (2004) *Understanding the Human Body : An Introduction to Anatomy and Physiology. Endocrine.*
- Górnaś P, Radziejewska-Kubzdela E, Mišina I, Biegańska-Marecik R, Grygier A, Rudzińska M (2017) Tocopherols, tocotrienols and carotenoids in kernel oils recovered from 15 apricot (*Prunus armeniaca* L.) genotypes. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 94(5): 693-699
- Gould E, Beylin A, Tanapat P, Reeves A, Shors TJ (1999) Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nat Neurosci* 2:260–265

- Gould T D (2009) Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice: Characterization Using Behavioral Tests, *neuromethode* 42. springer protocols. Humanapress 55
- Gouny C (2018) Propriétés morpho-fonctionnelles des neurones GABAergiques générés tôt dans la région CA1 de l'hippocampe adulte et en développement (Doctoral dissertation, Aix-Marseille).
- Greig LC, Woodworth MB, Galazo MJ, Padmanabhan H, Macklis JD (2013) Molecular logic of neocortical projection neuron specification, development and diversity. *Nat Rev Neurosci* 14(11):755–769. <https://doi.org/10.1038/nrn3586>
- Griffin E G (1974) *World Without Cancer, The Story of Vitamin B17- Part one*, Thousand Oaks, CA: American Media
- Guccione F (2018) I circuiti dell'ansia. *Tratto da*.
- Gueutin V, Deray G, Isnard-Bagnis C (2012) Physiologie rénale. *Bull Cancer* 99: 237-49
- Gueutin V, Deray G, Isnard-Bagnis C, Janus N (2011) La physiologie rénale. *J Pharm Clin* 30(4) : 209-14. [doi:10.1684/jpc.2011.0191](https://doi.org/10.1684/jpc.2011.0191)
- Guichenez P, Perriot J, Quantin X, et al (2006) Troubles anxieux et dépressifs dans l'aide à l'arrêt du tabagisme. *Lettre du pneumologue* 9 (5) :200–206
- Guillemot F (2005) Cellular and molecular control of neurogenesis in the mammalian telencephalon. *Current opinion in cell biology* 17(6): 639-647
- Guler G, Cakmak Y, Dagli Z, Aktumsek A, Ozparlak H (2010) Organochlorine pesticide residues in wheat from Konya region, Turkey. *Food and Chemical Toxicology* 48: 1218-1221
- Gulinello M (2013) Behavioral Core Protocols and Training Balance Beam. *Behavioural Core Protocols* 1: 3-7
- Guo C, Sun L, Chen X, Zhang D (2013) Oxidative stress, mitochondrial damage and neurodegenerative diseases. *Neural Regen. Res* 8 2003–2014
- Gutteridge JM (1995) Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers tissue damage. *Clin. Chem* 41: 1819–1828

H

- Haass C, Willem M (2019) Secreted APP modulates synaptic activity: a novel target for therapeutic intervention? *Neuron* 101 : 557–559
- Haass C, Kaether C, Thinakaran G, Sisodia S (2012) Trafficking and proteolytic processing of APP. *Cold Spring Harb. Perspect. Med* 2: a006270
- Haass C, Selkoe D J (2007) Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid β - peptide. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol* 8: 101–112
- Habig W H, Pabst M J, Jakoby W B (1974) Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Biol. Chem* 249 (22): 7130-7139. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4436300>.
- Habuka M, Fagerberg L, Hallström B M, Kampf C, Edlund K, Sivertsson Å, Odeberg J (2014) The kidney transcriptome and proteome defined by transcriptomics and antibody-based profiling. *PloS one* 9(12) : e116125
- Hadjadj S (2017) Analyses phytochimiques et activités biologiques des extraits de deux plantes médicinales du Sahara septentrional Est Algérien. Thèse pour obtention du doctorat en Sciences. Ouargla, université de Kasdi Merbah ,123p
- Hafez E M, Issa S Y, Al-Mazroua M K, Ibrahim K T, Rahman S M A (2016) The neonicotinoid insecticide imidacloprid: A male reproductive system toxicity inducer-human and experimental study. *Toxicol. Open Access* 2(1000109): 2476-2067.

- Haleng J, Pincemail J, Defraigne J O, Charlier C, Chapelle J P (2007) Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège* 62(10) : 628-38
- Harborne JB (1998) *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis*. 3^{éd}. ISBN: 0-412-57260-5 (HB) and 0-412-57270-2 (PB). 203-214
- Hasselmo M E (2006) The role of acetylcholine in learning and memory. *Current opinion in neurobiology* 16(6) : 710-715
- Haubensak W, Attardo A, Denk W, Huttner WB (2004) Neurons arise in the basal neuroepithelium of the early mammalian telencephalon: a major site of neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:3196-3201
- Hausser N, Johnson K, Parsley M A, Guptarak J, Spratt H, Sell S L (2018) Detecting behavioral deficits in rats after traumatic brain injury. *Journal of Visualized Experiments* 2018(131): 1–11
- Hendawi M Y, Alam R T, Abdellatif S A (2016) Ameliorative effect of flaxseed oil against thiacloprid-induced toxicity in rats: hematological, biochemical, and histopathological study. *Environmental Science and Pollution Research* 23(12): 11855-11863. *Cancer Lett* 357(1): 47-54
- Hennebelle T, Sahnaz S, Bailleul F (2004) Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie* 2(1) : 3-6
- Henry N, Sèbe P (2008) *Anatomie des reins et de la voie excrétrice supérieure*. EMC. Paris: Elsevier Masson 1(1) : 1–10. Doi :10.1016/S1762-0945(08)44011-1
- Hermans L, Leunissen I, Pauwels L, Cuypers K, Peeters R, Puts N A, Swinnen S P (2018) Brain GABA levels are associated with inhibitory control deficits in older adults. *Journal of Neuroscience* 38(36): 7844-7851
- Hernández A F, Parrón T, Tsatsakis A M, Requena M, Alarcón R, López-Guarnido O (2013) Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: their relevance to human health. *Toxicology* 307: 136-145
- Hertz L (2013) The glutamate–glutamine (GABA) cycle: importance of late postnatal development and potential reciprocal interactions between biosynthesis and degradation. *Frontiers in endocrinology*,59.
- Hirano T, Yanai s, Omotehara T, Hashimoto R, Umemura Y, Kubota N, Hoshi N (2015) The combined effect of clothianidin and environmental stress on the behavioral and reproductive function in male mice. *Journal of Veterinary Medical Science* 15-0188
- Hirano T, Yanai S, Takada T, Yoneda N, Omotehara T, Kubota N, Hoshi N (2018) NOAEL-dose of a neonicotinoid pesticide, clothianidin, acutely induce anxiety-related behavior with human-audible vocalizations in male mice in a novel environment. *Toxicology Letters* 282: 57-63
- Hirota S, Takao K, Hattori S, Miyakawa T (2016) Age-related changes in behavior in C57BL/6J mice from young adulthood to middle age. *Molecular brain* 9(1): 11
- Holtzman D M, Morris J C, Goate A M (2011) Alzheimer’s disease: the challenge of the second century. *Sci. Transl. Med* 3: 77-71
- Hopewell H, Floyd K G, Burnell D, Hancock JT, Allainguillaume J, Lodomery M R, Wilson I D (2017) Residual ground-water levels of the neonicotinoid thiacloprid perturb chemosensing of *Caenorhabditis elegans*. *Ecotoxicology*, 26(7): 981-990
- Horozić E, Zukić A, Kolarević L, Bjelošević D, Ademović Z, Šarić-Kundalić B, Husejnagić D, Kudumović A, Hamzić S (2019) Evaluation of antibacterial and antioxidant activity of methanol needle extracts of *Larix Decidua* Mill., *Picea Abies* (L.) H. Karst. and *Pinus Nigra* J. F. Arnold. *Technics Technologies Education Management* 14(1) : 14-19
- Houlot R (1984) *Techniques d’histopathologie et de cytopathologie*. Ed Maloine human disease: an overview. *Methods Enzymol* 186: 1-85
- Hsu S S, Jan C R, Liang W Z (2018) The investigation of the pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin (LCT)-affected Ca²⁺ homeostasis and-activated Ca²⁺-associated mitochondrial apoptotic pathway in normal

human astrocytes: The evaluation of protective effects of BAPTA-AM (a selective Ca^{2+} chelator). *Neurotoxicology* 69: 97-107

Hunter DR, Haworth RA, Southard JH(1976) Relationship between configuration, function, and permeability in calcium-treated mitochondria. *J. Biol. Chem* 251 : 5069-5077

I

Ichikawa G, Kuribayashi R, Ikenaka Y, Ichise T, Nakayama S M, Ishizuka M, Yoshihara S (2019) LC-ESI/MS/MS analysis of neonicotinoids in urine of very low birth weight infants at birth. *PLoS One* 14(7): e0219208

Igney FH, Krammer PH (2002) Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. *Nat Rev Cancer* 2(4): 277–88.

Ingrid H (2018) le journal des femmes et de santé, Vitamine C : liposomale, naturelle, comment la prendre ?

Inta D, Cameron HA, Gass P (2015) "New neurons in the adult striatum: from rodents to humans." *Trends in neurosciences* 38 (9) : 517-523.

Iqbal M, Sharma S D, Okazaki Y, Fujisawa M, Okada S (2003) Dietary supplementation of curcumin enhances antioxidant and phase II metabolizing enzymes in ddY male mice: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 92(1): 33-38

Iturburu FG, Z€omisch M, Panzeri AM, Crupkin AC, Contardo-Jara V, Pflugmacher S, Menone ML (2017) Uptake, distribution in different tissues, and genotoxicity of imidacloprid in the freshwater fish *Australoheros facetus*. *Environ. Toxicol. Chem* 36 : 699e708

J

Jabłowska-Trypuć A, Wołjko E, Wydro U, Butarewicz A (2017) The impact of pesticides on oxidative stress level in human organism and their activity as an endocrine disruptor. *Journal of environmental science and health, part B* 52(7): 483-494

JABOT C (2017) Développement de stratégies analytiques basées sur la LC-MS/MS pour la recherche de traces de pesticides et métabolites dans des matrices apicoles.

Jakubczyk K, Dec K, Kałduńska JU S T Y N A, Kawczuga D O R O T A, Kochman J, Janda K A T A R Z Y N A (2020) Reactive oxygen species-sources, functions, oxidative damage. *Polski merkuriusz lekarski: organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego* 48(284): 124-127

Jang K J, Mehr A P, Hamilton G A, McPartlin L A, Chung S, Suh K Y, Ingber D E (2013) Human kidney proximal tubule-on-a-chip for drug transport and nephrotoxicity assessment. *Integrative Biology* 5(9): 1119-1129

Janowsky D, Davis J, El-Yousef M.K, Sekerke HJ (1972) A cholinergic-adrenergic hypothesis of mania and depression. *Lancet* 1972 300: 632–635

Jayasena T, Poljak A, Smythe G, Braidy N, Munch G, Sachdev P (2013) The role of polyphenols in the modulation of sirtuins and other pathways involved in Alzheimer's disease. *Ageing Res. Rev.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.arr.2013.06.003>

Jenkins F, Smith J (2003) Effect of sublethal concentration of endosulfan on hematological and serum biochemical parameters in the carp *Cyprinus carpio*. *Journal of Environmental Contamination and Toxicology* 70:993-47

JESCHKE P, NAUEN R, SCHINDLER M, ELBERT A (2011) Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *Journal of agricultural and food chemistry* 59: 2897-2908

Jeyaratnam J (1990) Acute pesticide poisoning: a major global health problem. *World health statistics quarterly* 1990 43 (3): 139-144

- Juhaimi F, Özcan MM, Ghafoor K, Babiker EE (2018) The effect of microwave roasting on bioactive compounds, antioxidant activity and fatty acid composition of apricot kernel and oils. *Food Chem* 2018 243: 414–419
- Jürgenson M, Aonurm-Helm A, Zharkovsky A (2010) Behavioral profile of mice with impaired cognition in the elevated plus-maze due to a deficiency in neural cell adhesion molecule. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 96(4): 461-468
- K**
- Kagawa N, Nagao T (2018) Neurodevelopmental toxicity in the mouse neocortex following prenatal exposure to acetamiprid. *Journal of Applied Toxicology* 38(12): 1521-1528
- Kagawa N, Nagao T (2018) Neurodevelopmental toxicity in the mouse neocortex following prenatal exposure to acetamiprid. *Journal of Applied Toxicology* 38(12): 1521-1528
- Kalra J, Mantha SV, Prasad K (1994) Oxygen free radicals: key factors in clinical diseases. *Lab Med Int* 11(13–19):14
- Kamada Y, Funakoshi T, Shintani T, Nagano K, Ohsumi M, Ohsumi Y (2000) Tor-mediated induction of autophagy via an Apg1 protein kinase complex. *J Cell Biol* 2000 150:1507-13; PMID:10995454; <http://dx.doi.org/10.1083/jcb.150.6.1507>
- Kammoun I, Sellem I, Ben Saad H, Boudawara T, Nasri M, Gharsallah N, Amara I B (2019) Potential benefits of polysaccharides derived from marine alga *Ulva lactuca* against hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by thiacloprid, an insecticide pollutant. *Environmental Toxicology* 34 (11): 1165–1176. <https://doi.org/10.1002/tox.22818>
- Kanane A, Rouaki F, Errahmani M B, Laraba A, Mesbah H, Ammouche A (2019) Pro-oxidant effects of a high α -tocopherol dose on kidney antioxidant biomarkers and histopathological aspects. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*.
- Kanduc D, Mittelman A, Serpico R O S A R I O, Sinigaglia E B E R T A, Sinha A A, Natale C, Farber E M A N U E L (2002) Cell death: apoptosis versus necrosis. *International journal of oncology* 21(1): 165-170
- Kanthasamy A, Jin H, Anantharam V, Sondarva G, Rangasamy V, Rana A, Kanthasamy A (2012) Emerging neurotoxic mechanisms in environmental factors induced neurodegeneration. *NeuroToxicology* 33(4): 833–837
- Kaoud H A, Mekawy M M (2011) Effect of cadmium pollution on neuromorphology and function of brain in mice offspring. *Nature Sci* 9: 28-35
- Kaplan LA, Rubaltelli FF, Hammerman C, Vilei MT, Leiter C, Abramov A (1984b) Bilirubin. In: Kaplan LA, Pesce AJ. editors. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*. St Louis, Toronto: Princeton :The C. V. Mosby Company.1238-41
- Kapoor U, Srivastava M K, Bhardwaj S, Srivastava L P (2010) Effect of imidacloprid on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in female rats to derive its No Observed Effect Level (NOEL). *The Journal of toxicological sciences* 35(4): 577-581
- Kara M, Yumrutas O, Demir CF, Ozdemir H H, Bozgeyik I, Coskun S, Eraslan E, Bal R (2015) Insecticide imidacloprid influences cognitive functions and alters learning performance and related gene expression in a rat model. *International journal of experimental pathology* 96(5): 332-337
- Karabulut AB, Önal Y, Gül M, Otlu O, Tuzcu M, Gül S (2014) Nutri-Protection and Mediterranean Diet: Bitter Apricot Kernel and Amygdalin Treatment Effects on a Battery of Oxidative Stress and Apoptosis Biomarkers. *J Plant Physiol Pathol* 2 (3): 2
- Karatas AD (2009) Severe central nervous system depression in a patient with acute imidacloprid poisoning. *Am J Emerg Med* 27:1171. E5–1171.E7

- Karpińska A, Gromadzka G (2013) Oxidative stress and natural antioxidant mechanisms: the role in neurodegeneration. From molecular mechanisms to therapeutic strategies. *Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej (Online)* 67: 43-53
- Katić A, Kašuba V, Kopjar N, Lovaković B T, Čermak A M M, Mendaš G, Milić M, Micek V, Pavičić I, Pizent A, Žunec S, Želježić D (2020) Effects of low-level imidacloprid oral exposure on cholinesterase activity, oxidative stress responses, and primary DNA damage in the blood and brain of male Wistar rats. *Chemico-Biological Interactions* 109287
- Kaur R, Arora S, Singh B (2008) Antioxidant activity of the phenol rich fractions of leaves of *Chukrasia tabularis* A. Juss. *Bioresource technology* 99(16): 7692-7698
- Kebieche M, Lakroun Z, Lahouel M, Bouayed J, Meraihi Z, Souliman R (2009) Evaluation of epirubicin induced acute oxidative stress toxicity in rat liver cells and mitochondria, and the prevention of toxicity through quercetin administration. *Experimental and Toxicologic Pathology* 61: 161-167
- Keller JN (2006) Interplay between oxidative damage, protein synthesis, and protein degradation in Alzheimer's disease. *J. Biomed. Biotechnol.* 2006 12129
- Kempermann G, Jessberger S, Steiner B, Kronenberg G (2004) Milestones of neuronal development in the adult hippocampus. *Trends Neurosci* 27:447–452
- Kenney JW, Gould TJ (2008) Modulation of hippocampus dependent learning and synaptic plasticity by nicotine. *Mol Neurobiol* 38:101–21
- Kent S A, Spires- Jones T L, Durrant C S (2020) The physiological roles of tau and Aβ : implications for Alzheimer's disease pathology and therapeutics. *Acta Neuropathol* 140 : 417–447
- Khalaf-Nazzal R, Francis F (2013) Hippocampal development—old and new findings. *Neuroscience* 248: 225-242
- Khanna Sood P, Sharma S, Nehru B (2012) Consequences of nicotine exposure during different phases of rat brain development. *Brain Dev* 34(7):591–600
- Khithir H (2020) Effect of Thymoquinone as Prophylactic Treatment Against CC14- Induced Hepatotoxicity on Antioxidants Status. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics* 10 (5) : 208-212
- Kidd P (2016) Glutathione: Systemic protectant against oxidative and free radical damage. *Alt Med Rev* 2(3):155-177
- Kim C, Lee S J. (2008) Controlling the mass action of alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Journal of neurochemistry* 107: 303-316. doi:10.1111/j.1471-4159.2008.05612.x (2008).
- Kim J, Basak J M, Holtzman D M (2009) The role of apolipoprotein E in Alzheimer's disease. *Neuron* 63: 287–303
- Kim J, Park Y, Yoon K S, Clark J M, Park Y (2013) Imidacloprid, a neonicotinoid insecticide, induces insulin resistance. *The Journal of toxicological sciences* 38(5): 655-660
- Kim JH, Lee SY, Oh SY, Han SI, Park HG, Yoo M, Kang HS (2004) Methyl jasmonate induces apoptosis through induction of Bax/Bcl- X~ s and activation of caspase-3 via ROS production in A549 cells. *Oncol Rep* 12(6): 1233–8
- 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
- Kimura-Kuroda J, Komuta Y, Kuroda Y, Hayashi M, Kawano H (2012) Nicotine-like effects of the neonicotinoid insecticides acetamiprid and imidacloprid on cerebellar neurons from neonatal rats. *PLoS ONE* 7: e32432
- Knoferle J, Yoon SY, Walker D (2014) Apolipoprotein E4 produced in gabaergic interneurons causes learning and memory deficits in mice. *J Neurosci* 34:14069–78

- Knowlton B J, Mangels J A Squire L R (1996) A neostriatal habit learning system in humans. *Science* 273 (5280): 1399-1402
- Kocaman A Y, Rencüzoğulları E, Topaktaş M (2014) In vitro investigation of the genotoxic and cytotoxic effects of thiacloprid in cultured human peripheral blood lymphocytes. *Environmental toxicology* 29(6): 631-641
- Koepp M J, Gunn R N, Lawrence A D, Cunningham V J, Dagher A, Jones T, Grasby P M (1998) Evidence for striatal dopamine release during a video game. *Nature* 393(6682): 266-268
- Kokoeva Y, Kokoeva F (2005) "Neurogenesis in the hypothalamus of adult mice: potential role in energy balance." *Science* 310.5748 (2005): 679-683
- Kolesárová A, Pivko J, Halenár M, Zbyňovská K, Chrastinová L, Ondruška L, Valuch J (2017) Effect of apricot seeds on renal structure of rabbits. *Potravinárstvo: Slovak Journal of Food Sciences* 11(1): 309-
- Koller A (1984) Total serum protein. *Clin Chem. Toronto : Princeton.* 1316-1324
- Kopčėková J, Kolesárová A, Gažarová M, Lenártová P, Mrázová J (2017) Effect of short-term consumption bitter apricot seeds on the body composition in healthy population. *Potravinárstvo: Slovak Journal of Food Sciences* 11(1): 151-155
- Koriem KMM (2021) Phytochemical Screening, Chemical Constituents, Traditional Medicine Usage, Pharmacological Effect, Metabolism and Pharmacokinetics of Semen armeniacaе.
- Kovacova V, Sarocka A, Blahova J, Sranko P, Omelka R, Galbavy D, Kolesarova A, Martiniakova M (2020) Long- term peroral administration of bitter apricot seeds influences cortical bone microstructure of rabbits. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 104(1) : 362-370
- Krajeski RN, Macey-Dare A, Heusden F, Ebrahimjee F, Ellender TJ (2019) Dynamic postnatal development of the cellular and circuit properties of striatal D1 and D2 spiny projection neurons. *J. Physiol* 597: 5265–5293. <https://doi.org/10.1113/JP278416>.
- Krebs ET Jr (1970) The nitrilosides (Vitamin B17) Their nature, occurrence and metabolic significance antineoplastic VitaminB17. *The Journal of Applied Nutrition* 1970 22:75-86.
- Kristal BS, Park BK, Yu BP (1996) 4-Hydroxynonénal est un puissant inducteur de la transition de perméabilité mitochondriale. *Biol Chem* 6033–6038
- Kumar RS, Venkateshwar C, Samuel G, Rao SG (2013) Phytochemical Screening of some compounds from plant leaf extracts of *Holoptelea integrifolia* (Planch.) and *Celestrus emarginata* (Grah.) used by Gondu tribes at Adilabad District, Andhrapradesh, India. *International Journal of Engineering Science Invention* 2(8):6570
- Kurutas EB (2016) The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutr J* Jul 25 15(1):71. doi: 10.1186/ s12937-016-0186-5.

L

- Lacour B (2013) Physiologie des reins et bases physiopathologiques des maladies rénales. *Revue francophone des laboratoires* P 25-36.[https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(13\)71993-2](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(13)71993-2)
- Lacour B, Belon JP (2015) Physiologie du système urinaire. In: Lacour B, Belon JP. *Physiologie*. Paris: Masson 165-94
- Lagali P, Corcoran CP, Picketts DJ (2010) "Hippocampus development and function: role of epigenetic factors and implications for cognitive disease." *Clinical genetics* 78 (4): 321- 333
- Laghari A H, Ali Memon A, Memon S, Nelofar A, Khan K M, Yasmin A (2012) Determination of free phenolic acids and antioxidant capacity of methanolic extracts obtained from leaves and flowers of camel thorn (*Alhagi maurorum*). *Natural product research* 26(2): 173-176

- 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. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int* 22 : 7776–7781
- Lam H A, Wu N, Cely I, Kelly R L, Hean S, Richter F, Maidment N T (2011) Elevated tonic extracellular dopamine concentration and altered dopamine modulation of synaptic activity precede dopamine loss in the striatum of mice overexpressing human α -synuclein. *Journal of neuroscience research* 89(7): 1091-1102
- Laperche Y (2003) "[Oval cells and liver regeneration]." *Med Sci (Paris)* 19(6-7): 697-698
- Laperche Y (2007) "[Origin of liver murine oval cells]." *Med Sci (Paris)* 23(5): 480-482
- Laureys S (2005b) Science and society: death, unconsciousness and the brain. *Nat Rev Neurosci* 6(11) : 899-909
- Laureys S, Owen A M, Schiff N D (2004) Brain function in coma, vegetative state, and related disorders. *Lancet Neurol*, 3(9): 537-546
- Laverne G (2020) Conséquences de l'inhibition des interneurons cholinergiques du striatum sur la transmission corticostriée en conditions normale et parkinsonienne (Doctoral dissertation, Aix-Marseille).
- Leake A, Chisholm G D, Habib F K (1984) The effect of zinc on the 5 α -reduction of testosterone by the hyperplastic human prostate gland, *J. Steroid Biochem.*, vol. 20, no 2.
- Leboffe L, di Masi A, Trezza V, Pasquadibisceglie A, Macari G, Polticelli F, Ascenzi P (2020) Neonicotinoid trapping by the FA1 site of human serum albumin. *IUBMB life* 72(4): 716-723
- Lebouc M, Richard Q, Garret M, Baufreton J (2020) Striatal circuit development and its alterations in Huntington's disease. *Neurobiology of Disease* 145: 105076
- Lee, Blackshaw (2012) "Functional implications of hypothalamic neurogenesis in the adult mammalian brain." *International journal of developmental neuroscience* 30 (8) : 615-621
- Leger M, Quiedeville A, Bouet V, Haelewyn B, Boulouard M, Schumann-Bard P, Freret T (2013) Object recognition test in mice. *Nature protocols* 8(12) : 2531-2537
- Legrand M (2016) Effets de l'uranium appauvri sur le processus de neurogenèse au cours du développement et à l'âge adulte chez le rat (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay).
- Letournel F, Pietrin D, Verny C, Dubas F, Amati-Bonneau P, Bonneau D, Reynier P (2007) M-12 Relation inclusions intranucléaires—ADN mitochondrial dans la maladie de Huntington. *Revue Neurologique* 163(4): 115
- Leverve, Xavier (2009) "Stress oxydant et antioxydants?." *Cahiers de Nutrition et de Diététique* 44.5 (2009): 219-224
- Li X, Yao Y, Wang J, Shen Z, Jiang Z, Xu S (2022) Eucalyptol relieves imidacloprid-induced autophagy through the miR-451/Cab39/AMPK axis in *Ctenopharyngodon idellus* kidney cells. *Aquatic Toxicology* 106204
- Li J, McQuade T, Siemer AB, Napetschnig J, Moriwaki K, Hsiao YS, Damko E, Moquin D, Walz T, McDermott A, Chan FKM (2012a) The RIP1/RIP3 necrosome forms a functional amyloid signaling complex required for programmed necrosis. *Cell* 150(2): 339–50
- Li K, Yang W, Li Z, Jia W, Li J, Zhang P, Xiao T (2016) Bitter apricot essential oil induces apoptosis of human HaCaT keratinocytes. *International immunopharmacology* 34:189-198
- Li WW, Li J, Bao JK (2012b) Microautophagy: lesser-known self-eating. *Cell Mol Life Sci* 69(7): 1125–36
- Li Y, Zhong W, Wang D, Feng Q, Liu Z, Zhou J, Luo M (2016) Serotonin neurons in the dorsal raphe nucleus encode reward signals. *Nature communications* 7(1): 1-15
- Lima L M, Ferreira S M, Ávila A A, Perazzo F F, Schneedorf J M, Hinsberger A, Carvalho J C T (2007) Les effets de l'ayahuasca sur le système nerveux central: étude comportementale. *Phytothérapie* 5(5): 254-257
- Lin L, Eric H B (2015) Autophagy, cell death, and cancer, *Molecular & Cellular Oncology* 2(3): e985913, DOI: 10.4161/23723556.2014.985913

- Liu F, Tao X, Pang G, Wu D, Hu Y, Xue S, Liu J, Li B, Zhou L, Liu Q, Zhang YM (2020) Maternal nicotine exposure during gestation and lactation period affects behavior and hippocampal neurogenesis in mouse offspring. *Front Pharmacol* 10: 1569
- Lods M (2018) Rôle de la neurogenèse hippocampique adulte dans la stabilisation à long terme de la mémoire spatiale (Doctoral dissertation, Université de Bordeaux).
- Lonare M, Kumar M, Raut S, Badgajar P, Doltade S, Telang A (2014) Evaluation of imidacloprid-induced neurotoxicity in male rats: a protective effect of curcumin. *Neurochemistry international* 78: 122-129
- Lucey M R, Terrault N, Ojo L, Hay J E, Neuberger J, Blumberg E, Teperman L W (2013) Long-term management of the successful adult liver transplant: 2012 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the American Society of Transplantation. *Liver transplantation* 19(1): 3-26
- Luong T N, Carlisle H J, Southwell A, Patterson P H (2011) Assessment of motor balance and coordination in mice using the balance beam. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)* (49): e2376
- Luscher B, Shen Q, Sahir N (2011) The GABAergic deficit hypothesis of major depressive disorder. *Mol. Psychiatry* 16: 383–406. doi: 10.1038/mp.2010.120
- Lushchak V I, Bagnyukova T V (2007) Hypoxia induces oxidative stress in tissues of a goby, the rotan *Percottus glenii*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 148(4): 390-397

M

- Maciejczyk M, Mikoluc B, Pietrucha B, Heropolitanska-Pliszka E, Pac M, Motkowski R, Car H (2017) Oxidative stress, mitochondrial abnormalities and antioxidant defense in Ataxia-telangiectasia, Bloom syndrome and Nijmegen breakage syndrome. *Redox Biol* 11: 375–383
- Maciotta S, Merregalli M, Torrente Y (2013) The involvement of microRNAs in neurodegenerative diseases. *Frontiers in cellular neuroscience* 7: 265
- Maeda M, Kitauchi S, Hirano T, Ikenaka Y, Nishi M, Shoda A, Hoshi N (2021) Fetal and lactational exposure of the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) dose of the neonicotinoid pesticide clothianidin inhibits neurogenesis and induces different behavioral abnormalities at the developmental stages in male mice. *Journal of Veterinary Medical Science*, 20-0721.
- Maes M, Galecki P, Chang Y S, Berk M (2011) A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro) degenerative processes in that illness. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 35(3): 676-692.
- Mahadevan V (2019) Anatomy of the kidney and ureter. *Surgery (Oxford)* 37(7): 359-364
- Mahar I, Bambico FR, Mechawar N, Nobrega JN. Stress, serotonin, and hippocampal neurogenesis in relation to depression and antidepressant effects. *Neurosci Biobehav Rev.* 2014;38:173–92.
- Maitre M, Klein C, Mensah-Nyagan A G (2017) Mechanisms, risk factors and therapeutic strategies in Alzheimer's disease. *NPG Neurologie - Psychiatrie - Geriatrie* 17(102) : 352–364
- Maiuri MC, Le Toumelin G, Criollo A, Rain JC, Gautier F, Juin P, Tasdemir E, Pierron G, Troulinaki K, Tavernarakis N, Kroemer G (2007) Functional and physical interaction between Bcl-X(L) and a BH3-like domain in Beclin-1. *EMBO J* 2007; 26 (10):2527-2539; PMID:17446862; <http://dx.doi.org/10.1038/sj.emboj.7601689>
- Malberg JE, Eisch A J, Nestler E J, Duman R S (2000) Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *Journal of Neuroscience* 20(24): 9104-9110
- Mamdouh M, Shaban S, Ibrahim Abushouk A, Zaki M M M, Ahmed O M, Abdel-Daim M M (2017) Adipokines: potential therapeutic targets for vascular dysfunction in type II diabetes mellitus and obesity. *Journal of Diabetes Research*, 2017.

- Marieb E N (2008) Human Anatomy & Physiology, Cat Version. Benjamin-Cummings.
- Marieb E N (2009) Essentials of Human Anatomy and Physiology (Vol. 9). San Fransisco (CA): Pearson/Benjamin Cummings.
- Marieb E, Hoehn K (2010) Anatomie et physiologie humaine. Adaptation 8ème édition américaine Pearson 2010, ISBN : 9782761337472, 1294p.
- Marrs T C (Ed.) (2012) Mammalian toxicology of insecticides (No. 12). Royal Society of Chemistry.
- Marrs TC (éd.). (2012). Toxicologie des insecticides chez les mammifères (n ° 12). Société royale de chimie.
- Marshall WJ, Bangert SK (2004) Clinical Chemistry. 5 th ed, Elsevier, pp. 85-103.
- Martelli F, Zhongyuan Z, Wang J, Wong C O, Karagas N E, Roessner U, Batterham P (2020) Low doses of the neonicotinoid insecticide imidacloprid induce ROS triggering neurological and metabolic impairments in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117(41): 25840-25850
- Martin H L, Mounsey R B, Sathe K, Mustafa S, Nelson M C, Evans R M, Teismann P (2013) A peroxisome proliferator-activated receptor- δ agonist provides neuroprotection in the 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine model of Parkinson's disease. *Neuroscience* 240 : 191-203
- Martinez E, Martinez E, N E D (2019) décisionnelle To cite this version : HAL Id : tel02312720.
- Martini F H, Ober W C, Nath J L, Bartholomew E F, Petty K (2018) Visual anatomy and physiology.
- Marzetti E, Wohlgemuth S E, Lees H A, Chung H Y, Giovannini S, Leeuwenburgh C (2008) Age-related activation of mitochondrial caspase-independent apoptotic signaling in rat gastrocnemius muscle. *Mechanisms of ageing and development* 129(9): 542-549
- Masliah E, Hansen L, Albright T, Mallory M, Terry R D (1991) Immunoelectron microscopic study of synaptic pathology in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 81 (4): 428–433
- Massart A (2011) Supplémentation en oméga 3 et antioxydant et stress oxydant au cours d'un entraînement de judo. thèse présente pour obtenir le grade de : Docteur de l'université d'Orleans.
- Matias S, Lottem E, Dugué G P, Mainen Z F (2017) Activity patterns of serotonin neurons underlying cognitive flexibility. *Elife* 6: e20552
- Matthes S, Bader M (2018) Peripheral serotonin synthesis as a new drug target. *Trends in pharmacological sciences* 39(6): 560-572
- McGregor G, Harvey J (2018) regulation of hippocampal synaptic function by themetabolic hormone, leptin: implication for health and neurodegenerative disease. *Front. Cell. Neurosci.*12 : 340. <https://doi.org/10.3389/fncel.2011.00024>.
- McKay BE, Placzek AN, Dani JA (2007) Regulation of synaptic transmission and plasticity by neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Biochem Pharmacol* 74(8):1120–1133
- McKay R (1997) Stem cells in the cen-u-al nervous system. *Science* 276: 66-71
- Medina MB (2011) Simple and rapid method for the analysis of phenolic compounds in beverages and grains. *J Agricult Food Chem* 59: (15) 65-71
- Mehta SK, Gowder S J T (2015) Members of antioxidant machinery and their functions. In: Gowder, S.J.T. (Ed.), *Basic Principles and Clinical Significance of Oxidative Stress*. IntechOpen 61–85. <https://doi.org/10.5772/59293>.
- Meldrum B S (2000) Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology. *The Journal of nutrition* 130(4): 1007S-1015S
- Melki R (2015) Role of Different Alpha-Synuclein Strains in Synucleinopathies, Similarities with other Neurodegenerative Diseases. *Journal of Parkinson's disease* 5: 217-227. doi:10.3233/JPD-150543 (2015).

- Messiad R, Habes D, Soltani N (2015) Reproductive effects of a neonicotinoid insecticide (Imidacloprid) in the German Cockroaches *Blattella germanica* L.(Dictyoptera, Blattellidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies* 3(2): 01-06
- Millay M A D P, Sargent H, Osinska C P, Baines E R, Barton G, Vuagniaux H L, Sweeney J, Robbins J D, Molkenkin (2008) Genetic and pharmacologic inhibition of mitochondrial-dependent necrosis attenuates muscular dystrophy. *Nat. Med* 14 : 442–447
- Mille T, Quilgars C, Cazalets J R, Bertrand S S (2021) Acetylcholine and spinal locomotor networks: The insider. *Physiological Reports* 9(3): e14736
- Minaiyan M, Ghannadi A, Asadi M, Etemad M, Mahzouni P (2014) Antiinflammatory effect of *Prunus armeniaca* L(Apricot) extracts ameliorates TNBS-induced ulcerative colitis in rats. *Research in pharmaceutical sciences* 9(4): 225
- Mineur YS, Picciotto MR (2009) Biological basis for the co-morbidity between smoking and mood disorders. *J. Dual Diagn* 5:122–130
- Ming M, Li X, Fan X, Yang D, Li L, Chen S, Le W (2009) Retinal pigment epithelial cells secrete neurotrophic factors and synthesize dopamine: possible contribution to therapeutic effects of RPE cell transplantation in Parkinson's disease. *Journal of translational medicine* 7(1): 1-9
- Miyata T, Kawaguchi A, Saito K, Kawano M, Muto T, Ogawa M (2004) Asymmetric production of surface-dividing and non-surfacedividing cortical progenitor cells. *Development* 131:3133-3145
- Mizushima N, Yoshimori T, Ohsumi Y (2011) The role of Atg proteins in autophagosome formation. *Annu Rev Cell Dev Biol* 27:107–132
- Moeen D, Amer A M, Ismail N H, Ali E H (2018) Possible action of grape seed oil on brain toxicity induced by methomyl or imidacloprid of male rats. *Journal of Scientific Research in Science* 35(1): 250-272
- Mohany M, Badr G, Refaat I, Garraud O, EI-feki M (2011) Thymoquinone ameliorates immunological and histological changes induced by exposure to imidacloprid insecticide. *Toxicology Science* 37(1):1-11
- Molinier A, Druot J, Massol J (1986) *Pathologie médicale et pratique infirmière*. Vol. 2. Lammare, Paris.
- Mondal S, GHosh R, Mate M, Karmakar D (2009) Effects of acetamiprid on immune system in female Wistar rats. *Proceedings of the Zoological Society*. Springer 109-117
- Mondal S, Sengupta T, Pradhan S, Hansda R N, Mandal P S, Tiwari R, Mukhopadhyay S K (2014) Impaired learning and memory after a week-long exposure of acetamiprid in adult rats. *Adv. Anim. Vet. Sci* 2(10): 543-548
- Mondal, Sumanta (2018) Laetrile (Amygdalin or Vitamin B 17). Doi : 10.13140/RG.2.2.29796.27527.
- Moradi B, Heidari-Soureshjani S, Asadi-Samani M, Yang Q (2017) A systematic review of phytochemical and phytotherapeutic characteristics of bitter almond. *International journal of pharmaceutical and phytopharmacological research* 7: 1-9
- Moron M S, Depierre J W, Mannervik B (1979) Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in rat lung and liver. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 582(1): 67-78
- Mosharov E V, Larsen K E, Kanter E, Phillips K A, Wilson K, Schmitz Y, Sulzer D (2009) Interplay between cytosolic dopamine, calcium, and α -synuclein causes selective death of substantia nigra neurons. *Neuron* 62(2): 218-229
- Mostafalou S, Abdollahi M (2013) Pesticides and human chronic diseases: evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and applied pharmacology* 268(2): 157-177
- Moulin B, Peraldi MN (2016) Éléments de physiologie rénale. In: Collège universitaire des enseignants en néphrologie. *Néphrologie*. Paris: Ellipses 9-21

- Murray RL (1984b). Aspartate aminotransferase. In: Kaplan LA, Pesce AJ. editors. Clinical Chemistry:Theory, Analysis and Correlation. St Louis, Toronto. Princeton : The CV Mosby Company .1112-1116
- Murray RL (1984c) Alanine aminotransferase. In: Kaplan LA, Pesce AJ. editors. Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation. St Louis, Toronto: Princeton: The CV Mosby Company.1088-90
- Myslivecek J (2021) Two Players in the Field: Hierarchical Model of Interaction between the Dopamine and Acetylcholine Signaling Systems in the Striatum. *Biomedicines* 9: 25. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9010025>.

N

- Nakajima K, Nakano T, Tanaka A (2006) The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis : The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clin Chim Acta* 367: 36-47
- Nakayama A, Yoshida M, Kagawa N, Nagao T (2019) The neonicotinoids acetamiprid and imidacloprid impair neurogenesis and alter the microglial profile in the hippocampal dentate gyrus of mouse neonates. *Journal of Applied Toxicology* 39(6): 877-887
- Nedergaard M, Takano T, Hansen A J (2002) Beyond the role of glutamate as a neurotransmitter. *Nature Reviews Neuroscience* 3(9): 748-755
- Newberg A B, Iversen J (2003) The neural basis of the complex mental task of meditation: neurotransmitter and neurochemical considerations. *Medical hypotheses* 61(2): 282-291
- Nicola Z, Fabel K, Kempermann G (2015) Development of the adult neurogenic niche in the hippocampus of mice. *Front Neuroanat* 9:53. <https://doi.org/10.3389/fnana.2015.00053>
- Nicolson GL (2014) Mitochondrial dysfunction and chronic disease: Treatment with natural supplements. *Integr. Med. (Encinitas)* 13: 35–43
- Niehaus W G, Samuelsson B (1968) Formation of malonaldehyde from phospholipid arachidonate during microsomal lipid peroxidation. *The FEBS Journal* 6(1): 126-130
- Nieuwenhuys R (1998) Morphogenesis and general structure. In *The central nervous system of vertebrates*. Springer, Berlin, Heidelberg 159-228
- Niki E (2010) Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology and Medicine* 49(4) : 503-515
- Njei B, Rotman Y, Ditah I, Lim J K (2015) Emerging trends in hepatocellular carcinoma incidence and mortality. *Hepatology* 61(1): 191-199
- Normakhmatov R, Khudaishukurov T (1973) Apricot stone kernels as a valuable commercial by-product *Konserv. Ovoshch. Promyshl* (10):32-33
- Novotny L, Misik J Honzlova A, Ondracek P, Kuca K, Vavra O, Rachae V, Chloupek P (2011) Incidental poisoning of animals by carbamates in the Czech Republic. *J. Appl Biomed*, 9: 157-161

O

- Okada Y, Okada M (2013) Protective effects of plant seed extracts against amyloid β -induced neurotoxicity in cultured hippocampal neurons. *Journal of pharmacy & bioallied sciences* 5(2): 141
- Okonogi T, Nakayama R, Sasaki T, Ikegaya Y (2018) Characterization of peripheral activity states and cortical local field potentials of mice in an elevated plus maze test. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 12: 62
- Okuda S, Roozendaal B, McGaugh JL (2004) Glucocorticoid effects on object recognition memory require training-associated emotional arousal. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 101: 853–858
- Omirou M, Vryzas Z, Papadopoulou-Mourkidou E, Economou A (2009) Dissipation rates of iprodione and thiacloprid during tomato production in greenhouse. *Food Chemistry* 116(2): 499-504

- Oppenheim R W (1991) Cell death during development of the nervous system. *Annual review of neuroscience* 14(1): 453-501
- Oppenheim RW, Flavell RA, Vinsant S, Prevette D, Kuan CY, Rakic P (2001) Programmed cell death of developing mammalian neurons after genetic deletion of caspases. *J Neurosci* 21(13): 4752–60
- Ormerod B K, Galea L A M (2001) Reproductive status influences cell proliferation and cell survival in the dentate gyrus of adult female meadow voles: a possible regulatory role for estradiol. *Neuroscience* 102(2): 369-379
- P**
- Padurariu M, Ciobica A, Lefter R, Serban IL, Stefanescu C, Chirita R (2013) The oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Psychiatr. Danub* 25: 401–409
- Pala M, Ac kurt F, Loker M, Gurcan T, Yıldız M (1996) Türkiye’de yetistirilen degisik kayısı c,esitlerinin bilesimi ve beslenme fizyolojisi ac,ısından degerlendirilmesi ıda *Teknolojileri* 1:34–39
- Pang S, Lin Z, Zhang W, Mishra S, Bhatt P, Chen S (2020) Insights into the microbial degradation and biochemical mechanisms of neonicotinoids. *Frontiers in Microbiology* 11 : 868
- Paquet-Walsh A (2018) *Survie et réponses biochimiques des larves de perchaude exposées aux néonicotinoïdes et au rayonnement ultraviolet naturel (Doctoral dissertation, Université du Québec à Trois-Rivières).*
- Paradiso KG, Steinbach JH (2003) Nicotine is highly effective at producing desensitization of rat $\alpha_4\beta_2$ neuronal nicotinic receptors. *J.physiol* 553:857–871
- Parameshwaran K, Buabeid M A, Karuppagounder S S, Uthayathas S, Thiruchelvam K, Shonesy B, Suppiramaniam V (2012) Developmental nicotine exposure induced alterations in behavior and glutamate receptor function in hippocampus. *Cellular and Molecular Life Sciences* 69(5): 829-841
- Park JH, Seo BI, Cho SY, Park KR, Choi SH, Han CK, Song CH, Park SJ, Ku SK (2013) Single oral dose toxicity study of prebrewed armeniacae semen in rats. *Toxicological research* [Online], 29(2): 91–98. Available at: <http://dx.doi.org/10.5487/TR.2013.29.2.091>. [2016-09-14].
- Parker GA, Et Picut CA (2005) Liver immunobiology. *Toxicol.Pathol* 33:52-62
- Parrón T, Requena M, Hernández A F, Alarcón R (2011) Association between environmental exposure to pesticides and neurodegenerative diseases. *Toxicology and Applied Pharmacology* 256(3): 379–385
- Pathak N, Khandelwal S (2006) Oxidative stress and apoptotic changes in murine splenocytes exposed to cadmium. *Toxicology* 220(1): 26-36
- Pattingre S, Tassa A, Qu X, Garuti R, Liang XH, Mizushima N, Packer M, Schneider MD, Levine B (2005) Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy. *Cell* 122:927-39; PMID:16179260; <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2005.07.002>
- Peate I et Nair M (2017) *fundamentals of anatomy and physiology for nursing and healthcare students. USA. Willey Blackwell*
- Peate I, Nair M (2015) *Anatomy and physiology for nurses at a galance. USA. Willey blackwell.*
- Perrotta G (2019) Anxiety disorders: definitions, contexts, neural correlates and strategic therapy. *J Neur Neurosci* 6(1) : 042
- Perruchet P, Nicolas S (1998) L'apprentissage implicite: un débat théorique. *Psychologie française* 43 : 13-26
- Perry E K, Ashton H, Young A H (Eds.) (2002) *Neurochemistry of consciousness: Neurotransmitters in mind (Vol. 36). John Benjamins Publishing.*
- Persijn J P, van der Slik Á (1976) A new method for the determination of γ -glutamyltransferase in serum. *J Clin Chem Clin Biochem* (14) 9: 421-427
- Pfriege F W, Reber M (2013) Un nouvel aperçu des mécanismes de la communication neurone-glie.

- Pilz GA, Shitamukai A, Reillo I, Pacary E, Schwausch J, Stahl R, Ninkovic J, Snippert HJ, Clevers H, Godinho L, Guillemot F, Borrell V, Matsuzaki F, Gotz M (2013) Amplification of progenitors in the mammalian telencephalon includes a new radial glial cell type. *Nat. Commun* 4: 2125. <https://doi.org/10.1038/ncomms3125>.
- Pincemail J, Bonjean K, Cayeux K, Defraigne J O (2002) Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme* 16(4) : 233-239 *Medecine/Sciences*, 29(2) : 142-144
- Piotrowski W J, Marczak J (2000) Cellular sources of oxidants in the lung. *International journal of occupational medicine and environmental health* 13(4): 369-385
- Pissadaki E K, Bolam J P (2013) The energy cost of action potential propagation in dopamine neurons: clues to susceptibility in Parkinson's disease. *Front Comput Neurosci* 7:13. doi:10.3389/fncom.2013.00013 (2013).
- Poljsak B, Šuput D, Milisav I (2013) Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxid. Med. Cell. Longev* 1-11
- Pooler A M, Noble W, Hanger D P (2014) A role for tau at the synapse in Alzheimer's disease pathogenesis. *Neuropharmacology* 76 (Pt A) : 1-8
- Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M (1978) Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur. J. Pharmacol* 47(4): 379-391. Doi :10.1016/0014-2999(78)90118-8. PMID :204499
- Prieto-Moure B, Lloris-Carsí JM, Barrios-Pitarque C, Toledo-Pereyra LH , Lajara-Romance JM, Berda-Antoli M, Cejalvo-Lapena D (2016) Pharmacology of Ischemia-Reperfusion. *Translational research Considerations. Journal of Investigative Surgery* 29(4) :234-249
- Pritchard T C, Alloway K D (2002) Neurosciences médicales: les bases neuroanatomiques et neurophysiologiques. De Boeck Supérieur.
- Puzanowska-Tarasiewicz H, Starczewska B, Kuźmicka L (2008) Reactive oxygen species. *Bromatol. Chem. Toksykol* 41(4): 1007-1015

Q

- Qadir M, Fatima K (2017) Review on pharmacological activity of amygdalin. *Archives in Cancer Research* 5(4): 0-0
- Qin F, Yao L, Lu C, Li C, Zhou Y, Su C, Chen B, Shen Y (2019) Phenolic composition, antioxidant and antibacterial properties, and in vitro anti-HepG2 cell activities of wild apricot (*Armeniaca Sibirica* L. Lam) kernel skins. *Food and Chemical Toxicology* 129: 354-364
- Qin F, Yao L, Lu C, Li C, Zhou Y, Su C, Shen Y (2019) Phenolic composition, antioxidant and antibacterial properties, and in vitro anti-HepG2 cell activities of wild apricot (*Armeniaca Sibirica* L. Lam) kernel skins. *Food and Chemical Toxicology* 129 : 354-364
- Quick MW, Lester RA (2002) Desensitization of neuronal nicotinic receptors. *J. Neurobiol* 53: 457-478
- Qureshi A A, Prakash T, Patil T, Swamy A H M, Gouda A V (2007) Hepatoprotective and antioxidant activities of flowers of *Calotropis procera* (Ait) R. Br. in CCl₄ induced hepatic damage.
- Qureshi M I, Abdin M Z, Qadir S, Iqbal M (2007) Lead-induced oxidative stress and metabolic alterations in *Cassia angustifolia* Vahl. *Biologia Plantarum* 51(1) : 121-128

R

- Raaman N (2006) *Phytochemical Techniques*. New India Publishing Agency, New Delhi 19-24

- Radwan MU, Abdel-Mageed MA, Hindy ZA, El-Zarook A (2001) Kidney functions under stress of residual activity of some pesticides commonly used on fruits and vegetables orally administered. *Journal of Annals Agriculture Science* 46(1):405-21
- Rajeshwar Y, lalitha N (2013) Preliminary phytochemical screening and in vitro anthelmintic effects of *acmella paniculata* plant extracts. *Biolife1* (3): 106-112
- Ramadan A, Kamel G, Awad NE, Shokry AA, Fayed HM (2020) The pharmacological effect of apricot seeds extracts and amygdalin in experimentally induced liver damage and hepatocellular carcinoma. *J Herbmec Pharmacol* 9(4):400-407. doi: 10.34172/jhp.2020.50.
- Rao V K, Carlson E A, Yan S S (2014) Mitochondrial permeability transition pore is a potential drug target for neurodegeneration. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 1842(8): 1267-1272
- Rao VK, Carlson EA, Yan SS (2014) Mitochondrial permeability transition pore is a potential drug target for neurodegeneration. *Biochim Biophys Acta* 1842:1267–72
- Raven et al (2011) *Biologie 2e édition, de boeck supérieur*, p.889, 2011 <http://accs.ens-lyon.fr/accs/thematiques/neurosciences/actualisation-des-connaissances/phylogenie-et-evolution-des-systemes-nerveux/comprendre/anatomie-et-ontogenese-du-systeme-nerveux-des-vertebres>
- Rezaei M K, Shobbar Z S, Shahbazi M, Abedini R, Zare S (2013) Glutathione S-transferase (GST) family in barley: identification of members, enzyme activity, and gene expression pattern. *Journal of plant physiology* 170(14): 1277-1284
- Rice H C, De Malmazet D, Schreurs A, Frere S, Van Molle I, Volkov A N, De Wit J (2019) Secreted amyloid- β precursor protein functions as a GABABR1a ligand to modulate synaptic transmission. *Science* 363 (6423): eaao4827
- Riedel G, Platt B, Micheau J (2003) Glutamate receptor function in learning and memory. *Behavioural brain research* 140(1-2): 1-47
- Rizzo D C (2016) *Fundamentals of anatomy and physiology*. USA. Cengage learning.
- Rodrigues K J A, Santana M B, Do Nascimento J L M, Picanço-Diniz D L W, Maués L A L, Santos S N, Ferreira VMM, Alfonso M, Duran R, Faro L R F (2010) Behavioral and biochemical effects of neonicotinoid thiamethoxam on the cholinergic system in rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73(1): 101-107
- Rolando C, Taylor V (2014) Neural stem cell of the hippocampus: development, physiology regulation, and dysfunction in disease. *Curr Top Dev Biol* 107:183–206. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416022-4.00007-X>
- Rolland B (2012) *Mécanismes dopaminergiques des symptômes schizophréniques et nouvelles perspectives de modulation thérapeutique* (Doctoral dissertation, Université du Droit et de la Santé-Lille II).
- Rossetti M F, Stoker C, Ramos J G (2020) Agrochemicals and neurogenesis. *Molecular and cellular endocrinology* 510: 110820
- Rui L (2014) Energy metabolism in the liver. *Comprehensive physiology* 4(1): 177
- Rusoke-Dierich O (2018) *Diving Medicine* 123. Cham:Springer international Publishing.

S

- Sahu BD, Tatireddy S, Koneru M, Borkar RM, MaheshKumar J, Kuncha M, Srinivas R, Sunder Sh R, Sistla R (2014) Naringin ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity and associated mitochondrial dysfunction, apoptosis and inflammation in rats: Possible mechanism of nephroprotection. *Toxicol. And App. Pharmacol* 277(1): 8-20
- Salamone J D, Correa M, Farrar A, Mingote S M (2007) Effort-related functions of nucleus accumbens dopamine and associated forebrain circuits. *Psychopharmacology* 191(3): 461-482

- Sanberg PR (1994) Huntington's disease. In: Sanberg, P.R.; Victorin, K.; Isacson, O., eds. Cell transplantation for Huntington's disease. Boca Raton, FL: Medical Intelligence Unit Series/CRC Press; 1994:2-10.
- Sano K, Isobe T, Yang J, Win-Shwe T-T, Yoshikane M, Nakayama SF, Kawashima T, Suzuki G, Hashimoto S, Nohara K, Tohyama C and Maekawa F (2016) In utero and Lactational Exposure to Acetamiprid Induces Abnormalities in Socio-Sexual and Anxiety-Related Behaviors of Male Mice. *Front. Neurosci* 10:228. doi: 10.3389/fnins.2016.00228
- Saranya T, Kavithaa K, Paulpandi M, Ramya S, Prethi S, Balachandar V, Narayanasamy A (2020) Enhanced apoptosis and oncogene regulatory mechanism of trolox in triple negative breast cancer cells. *Toxicology Research*, 9(3): 230-238
- Savary C (2014) Étude de la toxicité chronique et du potentiel cancérigène de contaminants de l'environnement séparément et en mélange sur les cellules HepaRG. Rennes 1.
- Scalbert A, Morand C, Manach C, Rémésy C (2002) Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomed.Pharmacother* 56:276-82
- Scanlon VC, Sanders T(2007) *Essentials of anatomy and physiology*.
- Schaafsma A, Limay-Rios V, Baute T, Smith J, Xue Y (2015) Neonicotinoid insecticide residues in surface water and soil associated with commercial maize (corn) fields in southwestern Ontario. *PLoS one* 10(2): e0118139
- Schanderl SH (1970) *Method in Food Analysis*, Academic Press: New York p. 709.
- Scharfman H E, Hen R (2007) Is more neurogenesis always better?. *Science*, 315(5810):336-338
- Schilling JA (2009) *Anatomy and physiology made incredibly easy*. LippincottWilliams & Wilkins.
- Schrag M, Mueller C, Zabel M, Crofton A, Kirsch WM, Ghribi O, Squitti R, Perry G (2013) Oxidative stress in blood in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: A meta-analysis. *Neurobiol. Dis* 59: 100–110
- Schultz W (2007) Multiple dopamine functions at different time courses. *Annual review of neuroscience* 30(1): 259-288
- Schuermans C, Guillemot F (2002) Molecular mechanisms underlying cell fate specification in the developing telencephalon. *Curr. Opin. Neurobiol* 12: 26-34
- Schwarzbacherová V, Wnuk M, Deregowska A, Holečková B, Lewinska A (2019) In vitro exposure to thiacloprid-based insecticide formulation promotes oxidative stress, apoptosis and genetic instability in bovine lymphocytes. *Toxicology in Vitro* 61: 104654
- Scot AS, Fong E (2017) *Body structure and function*. USA. Cengage learning.
- Sebei K, Boukhchina S, Kallel H (2007) Évolution des tocophérols en relation avec les acides gras insaturés au cours de la maturation des graines de colza de printemps (*Brassica napus* L.). *C R Biologies* 330 : 55–61.
- Şekeroğlu V, Şekeroğlu Z A, Demirhan E S (2014) Effects of commercial formulations of deltamethrin and/or thiacloprid on thyroid hormone levels in rat serum. *Toxicology and industrial health* 30(1): 40-46
- Selvam V, Srinivasan S (2019) Neonicotinoid Poisoning and Management. *Indian J Crit Care Med* 2019 23(Suppl 4): S260–S262
- Semah F, Deberdt W, Ceccaldi M (2016) Diagnostic de la maladie d'Alzheimer: apport de l'imagerie au florbétapir et autres radiopharmaceutiques de la plaque amyloïde. *Médecine Nucléaire* 40(5): 364-381
- Semple BD, Blomgren K, Gimlin K, Ferriero DM, Noble-Haeusslein LJ (2013) "Brain development in rodents and humans: Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species." *Progress in neurobiology* 106:1-16
- Serra A A, Alberto D, Sulmon C, Gouesbet G, Couée I (2016) Implications des communautés végétales péri-agricoles dans la dynamique environnementale des pollutions par les pesticides. *Revue d'écologie. Terre et Vie* 71(3): 203-221

- Shagirtha K, Pari L (2011) Hesperetin, a citrus flavonone, protects potentially cadmium induced oxidative testicular dysfunction in rats. *Ecotoxicology and environmental safety* 74(7): 2105-2111
- Shailaja W, Balaji G W , Madhav R M (2019) Phytochemical and *in vitro* antioxidant activity of *Careya arborea* Roxb. leaves successive extracts. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* 9(2): 53-56
- Shakeri R, Kheirollahi A, Davoodi J (2017) Apaf-1 regulation and function in cell death. *Biochimie* 135: 111-125
- Sheel R, Nisha K, Kumar J (2014) Preliminary Phytochemical Screening of Methanolic Extract of *Clerodendron infortunatum*. *IOSR Journal of Applied Chemistry* 7(1):10-13
- Sheets L P, Li AA, Minnema D J, Collier R H, Creek M R, Peffer R C (2016) A critical review of neonicotinoid insecticides for developmental neurotoxicity. *Crit. Rev. Toxicol* 46: 153–190
- Sherer T B, Kim J H, Betarbet R, Greenamyre J T (2003) Subcutaneous rotenone exposure causes highly selective dopaminergic degeneration and α -synuclein aggregation. *Experimental neurology* 179(1): 9-16
- Shimada S, Kamiya M, Shigetou S, Tomiyama K, Komori Y, Magara L, Matsuda K (2020) The mechanism of loop C-neonicotinoid interactions at insect nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 1$ subunit predicts resistance emergence in pests. *Scientific Reports* 10(1): 1-8
- Shohayeb B, Diab M, Ahmed M, Ng D C H (2018) "Factors that influence adult neurogenesis as potential therapy." *Translational neurodegeneration* 7 (1): 1-19
- Showell S S, Martinez Y, Gondolfo S, Boppana S, Lawal H O (2020) Overexpression of the vesicular acetylcholine transporter disrupts cognitive performance and causes age-dependent locomotion decline in *Drosophila*. *Molecular and Cellular Neuroscience* 105: 103-483
- Shukla S, Jhamtani RC, Dahiya MS, Agarwal R (2017) Oxidative injury caused by individual and combined exposure of neonicotinoid, organophosphate and herbicide in zebrafish. *Tox. Rep* 4: 240e244
- Silberman J, Taylor A (2020) Carbamate Toxicity. *StatPearls* [Internet]. StatPearls Publishing.
- Silva GO, Abeyesundara AT, Aponso MM (2017) Extraction methods, qualitative and quantitative techniques for screening of phytochemicals from plants. *American Journal of Essential Oils and Natural Products* 5(2):29-32
- Silva R H, Kameda S R, Carvalho R C, Takatsu-Coleman A L, Niigaki S T, Abílio V C, Tufik S, Frussa-Filho R (2004) Anxiogenic effect of sleep deprivation in the elevated plus-maze test in mice. *Psychopharmacology* 176(2): 115-122
- Silvane V, Cambraia J, Ribeiro C, Oliveira J A, Oliva M A (2011) Cadmium induced oxidative stress and antioxidative enzyme response in water hyacinth and salvinia. *Brazilian J. Plant Physiol* 23(2): 131-139
- Singh V, Kumar R (2017) Study of Phytochemical Analysis and Antioxidant Activity of *Allium sativum* of Bundelkhand Region. *International Journal of Life Sciences Scientific Research* 3(6):1451-1458
- Singleton V L, Rossi J A (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture* 16(3): 144-158
- Skinner M K (2008) What is an epigenetic transgenerational phenotype?: F3 or F2. *Reproductive toxicology* 25(1): 2-6
- Skulachev VP (1998) Cytochrome c in the apoptotic and antioxidant cascades. *Febs lett* 423: 275-280
- Sokal E M (2009) "[Regeneration of the liver: from hepatocyte cells to deficient hepatic cells]." *Bull Mem Acad R Med Belg* 164(5-6): 207-212; discussion 213.
- Soliveri P, Brown R G, Jahanshahi M, Caraceni T, Marsden C D (1997) Learning manual pursuit tracking skills in patients with Parkinson's disease. *Brain* 120 (8) : 1325-1337
- Soltys K A, Soto-Gutierrez A, Nagaya M, Baskin KM, Deutsch M, Ito R, Fox IJ (2010) "Barriers to the successful treatment of liver disease by hepatocyte transplantation." *J Hepatol* 53(4): 769-774

- Sonar V P, Fois B, Distinto S, Maccioni E, Meleddu R, Cottiglia F, Talani G (2019) Ferulic acid esters and withanolides: in search of *Withania somnifera* GABAA receptor modulators. *Journal of natural products* 82(5): 1250-1257
- Song Z, Xu X (2014) Advanced research on anti-tumor effects of amygdalin. *Journal of cancer research and therapeutics* 10(5): 3
- Song Z, Xu X (2014) Advanced research on anti-tumor effects of amygdalin. *J Cancer Res Ther* 1: S3-7S. doi: 10.4103/0973-1482.139743
- Soong YY, Barlow PJ (2004) Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chemistry* 88(3):411-417
- Sousa V H, Fishell G (2010) Sonic hedgehog functions through dynamic changes in temporal competence in the developing forebrain. *Curr. Opin. Genet. Dev* 20: 391–399 <https://doi.org/10.1016/j.gde.2010.04.008>.
- Soylu-Kucharz R, Baldo B, Petersén Å (2016) Metabolic and behavioral effects of mutant huntingtin deletion in Sim1 neurons in the BACHD mouse model of Huntington's disease. *Scientific reports* 6: 28322
- Sparfel L (2017) Effets immunotoxiques des polluants environnementaux : exemple des hydrocarbures aromatiques polycycliques. *Archives des Maladies Professionnelles et de L'Environnement, Elsevier Masson* 77 (6) : 990-997. 10.1016/j.admp.2016.09.003. hal-01467562.
- Spijker S (2011) Dissection of rodent brain regions. In *Neuroproteomics*. Humana Press, Totowa, NJ. (pp. 13-26)
- Spires- Jones T L, Hyman B T (2014) The intersection of amyloid β and tau at synapses in Alzheimer's disease. *Neuron* 82: 756–771
- Squire L R (1992) Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychological review* 99(2): 195
- Stryjecka M, Kieltyka-Dadasiewicz A, Michalak M, Rachon L, Glowacka A (2019) Chemical composition and antioxidant properties of oils from seeds of five apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivars. *Journal of Oleo Science*. doi : 10.5650/jos.ess19121.
- Surmeier D J, Schumacker P T, Guzman J D, Ilijic E, Yang B, Zampese E (2017) Calcium and Parkinson's disease. *Biochemical and biophysical research communications* 483(4): 1013-1019
- Südhof T C (2008) Neurotransmitter release. *Pharmacology of Neurotransmitter Release* 1-21
- Szabó I, Bernardi P, Zoratti M (1992) Modulation of the mitochondrial megachannel by divalent cations and protons. *J. Biol. Chem* 267 : 2940-2946

T

- Tabassum S, Haider S, Ahmad S, Madiha S, Parveen T (2017) Chronic choline supplementation improves cognitive and motor performance via modulating oxidative and neurochemical status in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 159: 90-99
- Taibi N, Kahloula K, Adli D E H, Arabi W, Brahimi M, Slimani M (2020) Effet thérapeutique de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum* L. chez les rats Wistar exposés de manière subchronique à l'imidaclopride. Étude neurocomportementale. *Phytothérapie*.
- Tam PP, Loebel DA (2007) Gene function in mouse embryogenesis: get set for gastrulation. *Nat Rev Genet* 8(5):368–381. <https://doi.org/10.1038/nrg2084>
- Tanimura A, Pancani T, Lim S A O, Tubert C, Melendez AE, Shen W, Surmeier DJ (2018) Striatal cholinergic interneurons and Parkinson's disease. *Eur. J. Neurosci* 47: 1148–1158
- Tatem K S, Quinn J L, Phadke A, Yu Q, Dressman HG, Nagaraju K (2014) Behavioral and locomotor measurements using an open field activity monitoring system for skeletal muscle diseases *JoVE* (91): e51785

- Taupin P (2004) Contrôle de la persistance des cellules souches neurales des mammifères. *médecine/sciences* 20(8-9) : 748-749
- Taylor KS, Counsell CE, Gordon JC, Harris CE (2005) Screening for undiagnosed parkinsonism among older people in general practice. *Age Ageing* 2005 34: 501-04
- Temple MD, Perrone GG, Dawes IW (2005) Complex cellular responses to reactive oxygen species. *Trends Cell Biol* 15: 319–326. doi:10.1016/j.tcb.2005.04.003
- Tendi EA, Cunsolo R, Bellia D, Messina RL, Paratore S, Calissano P, Cavallaro S (2010) Drug target identification for neuronal apoptosis through a genome scale screening. *Curr. Med. Chem* 17: 2906–2920
- Terahı K (2018) An evaluation of neonicotinoids' potential to inhibit human cholinesterases: Protein–ligand docking and interaction profiling studies. *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 84: 54-63
- Terayama H, Endo H, Tsukamoto H, Matsumoto K, Umezu M, Kanazawa T, Sakabe K (2016) Acetamidiprid accumulates in different amounts in murine brain regions. *International journal of environmental research and public health* 13(10): 937
- Testud F, Grillet JP (2007) Insecticides organophosphorés, carbamates, pyrétrinoıdes de synthèse et divers. EMC. Toxicologie-Pathologie Professionnelle. 16-059-C-15
- Tian C, Singal A G (2015) Clinical reminders for hepatocellular carcinoma surveillance: an early step in a long journey. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 13(1): 180-182
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia* 1(1):98106
- Toda T, Gage FH (2017) Review: adult neurogenesis contributes to hippocampal plasticity. *Cell Tissue Res* Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s00441-017-2735-4> [Accessed July 20, 2018].
- Tohda C, Tamura T, Komatsu K (2003) Repair of amyloid β (25–35)-induced memory impairment and synaptic loss by a Kampo formula, Zokumei-to. *Brain Res* 990: 141-7
- Tomizawa M, Casida JE (2005) Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Ann. Rev. Pharmacol Toxicol* 45: 247–268
- Toor H K, Sangha G K, Khera K S (2013) Imidacloprid induced histological and biochemical alterations in liver of female albino rats. *Pesticide biochemistry and physiology* 105(1): 1-4
- Topal A, Alak G, Ozkaraca M, Yeltekin A C, Comaklı S, Acıl G, Kokturk M, Atamanalp M (2017) Neurotoxic responses in brain tissues of rainbow trout exposed to imidacloprid pesticide: assessment of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine activity, oxidative stress and acetylcholinesterase activity. *Chemosphere* 175: 186-191
- Tortora G, Derrickson B (2014) Manuel d'anatomie et de physiologie humaine. France. De Boeck Sup.
- Tortora G, Derrickson B (2017) Principales of anatomy & physiology.
- Toualbia N, Rouabhi R, Salmi A (2017) Evaluation of cytochrome c level and mitochondrial dysfunction biomarkers of oryctolague cuniculus liver exposed to chlorpyrifos. *Toxicology and Environmental Health Sciences* 9(5): 325-331
- Townsend DM, Tew KD (2003) The role of glutathione- S -transferase in anti-cancer drug resistance. *Oncogene* 22: 7369–7375. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206940>.
- Trevisani F, Garuti F, Cucchetti A, Lenzi B, Bernardi M (2015) "De novo hepatocellular carcinoma of liver allograft: A neglected issue." *Cancer Letters* 357(1): 47-54
- Trott L (2019) Magazines de santé, faites le plein de vitamines c.
- Truc G, Martin É, Mirjolet C, Chamois J, Petitfils A, Créhange G (2013) Quelle place pour l'irradiation panencéphalique avec épargne des hippocampes?. *Cancer/Radiothérapie* 17(5-6) : 419-423

Tsutsui H, Nishiguchi S (2014) "Importance of Kupffer cells in the development of acute liver injuries in mice." *Int J Mol Sci* 15(5): 7711-7730

Tušimová E, Zbyňovská K, Kováčik A, Michalčová K, Halenár M, Kolesárová A, Kolesárová A (2017) Human urine alterations caused by apricot seeds consumption. *Advanced Research in Life Sciences* 1(1): 68-74

U

Ueyama J, Nomura H, Kondo T, Saito I, Ito Y, Osaka A, Kamijima M (2014) Biological monitoring method for urinary neonicotinoid insecticides using LC-MS/MS and its application to Japanese adults. *Journal of occupational health*, 14-0077

Urbani A, Giorgio V, Carrer A, Franchin C, Arrigoni G, Jiko C, Bernardi P (2019) Purified F-ATP synthase forms a Ca²⁺-dependent high-conductance channel matching the mitochondrial permeability transition pore. *Nat. Commun* 10, 43-41

V

Vaglenova J, Birru S, Pandiella N M, Breese CR (2004) An assessment of the long-term developmental and behavioral teratogenicity of prenatal nicotine exposure. *Behav. Brain Res* 150, 159–170. doi: 10.1016/j.bbr.2003. 07.005

Vahedi_Mazdabadi Y, Karimpour-razkenari E, Akbarzadeh T, Lotfian H, Touseh M, Roshanravan N, Saeedif M Ostadrahimi, A (2020) In vitro anti-cholinesterase and neuroprotective activities of sweet and bitter apricot kernels (*Prunus armeniaca* L.). *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*.

Vamecq J, Vallée L, Storme L, Gelé P, Bordet R (2004) Les acteurs immédiats du stress oxydatif. *La Lettre du pharmacologue (Boulogne)* 18(1) : 16-23

Van Der Werf H M (1997) Evaluer l'impact des pesticides sur l'environnement. *Le Courrier de l'environnement de l'INRA* 31(31) : 5-22

Van Praag H, Christie BR, Sejnowski TJ, Gage FH (1999a) Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:13427–13431

Vardi N, Parlakpinar H, Ates B, Cetin A, Otlu A (2013) The protective effects of *Prunus armeniaca*, L (apricot) against methotrexate-induced oxidative damage and apoptosis in rat kidney. *J. Physiol. Biochem* 69: 371-381

Vaubourdolle M (2007) *Biochimie hématologie*. Tome 2. Editions du Moniteur des pharmacies pp 1116.

Vauzour D, Vafeiadou K, Rodriguez-Mateos A, Rendeiro C, Spencer JP (2008) The neuroprotective potential of flavonoids: a multiplicity of effects. *Genes Nutr* 3:115-26

Velho A M, Velho R M (2013) Anatomy and physiology series: infrastructure of the kidney. *journal of renal nursing* 5(5): 228-231

Vermot-Desroches A (2019) Évaluation des mécanismes toxicocinétiques impliqués dans l'exposition fœtale à un mélange de pesticides sur le modèle de la brebis gravide (Doctoral dissertation).

Vesile D, Suat, E (2010) Chronic exposure to imidacloprid induces inflammation and oxidative stress in the liver & central nervous system of rats. *Pest. Biochem. Physiol* 104 : 58-64

Vieira C E D, Pérez M R, Acayaba R D A, Raimundo C C M, dos Reis Martinez C B (2018) DNA damage and oxidative stress induced by imidacloprid exposure in different tissues of the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Chemosphere* 195: 125-134

Visel A, Taher L, Girgis H, May D, Golonzhka O, Hoch R V, Rubenstein J L (2013) A high-resolution enhancer atlas of the developing telencephalon. *Cell* 152(4): 895-908

Vivek R, Jain S K (2020) Ameliorative effect of resveratrol against thiacloprid induced acute and subacute toxicity in rats: Liver markers, renal markers and total protein. *The Pharma Innovation Journal* 2020 9(2): 254-259

- Vivek R, Jain S K (2020) Histopathology changes induced by acute and subacute toxicity of thiacloprid and its amelioration by resveratrol treatment. *The Pharma Innovation Journal* 2020 9(2): 254-259
- Vohra P, Khera K S (2015) Alterations in key enzymes and micromorphology of vital organs during exposure of imidacloprid in albino rats. *Int J* 3, 134-144
- Vohra P, Khera K S, Sangha G K (2014) Physiological, biochemical and histological alterations induced by administration of imidacloprid in female albino rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 110: 50-56
- Vohra P, Khera KS (2015) A three generation study with effect of imidacloprid in rats: Biochemical and histopathological investigation. *Toxicol Int* 22:119-24

W

- Wallace D C (2012) Mitochondria and cancer. *Nature Reviews Cancer* 12(10): 685-698
- Wang X, Anadón A, Wu Q, Qiao F, Ares I, Martínez-Larrañaga M R, Yuan Z, Martínez M A (2018) Mechanism of neonicotinoid toxicity: impact on oxidative stress and metabolism. *Annual review of Pharmacology and Toxicology* 58: 471-507
- Wang Y, Du Y, Huang N A (2018) survey of the role of nitrile groups in protein-ligand interactions. *Future Med. Chem* 2018 10: 2713–2728
- Wei F, Wang D, Li H, Xia P, Ran Y, You J (2020) Toxicogenomics provides insights to toxicity pathways of neonicotinoids to aquatic insect, *Chironomus dilutus*. *Environmental Pollution* 260 : 114011
- Wei Z, Li X, Li X, Liu Q, Cheng Y (2018). Oxidative stress in Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in molecular neuroscience* 11: 236
- Wenfeng,Z, Wu Y, DI M, Gong J, Chuanxin W, Chun H (2014) "Kupffer cells: increasingly significant role in nonalcoholic fatty liver disease." *Annals of Hepatology* 13(5): 489-495
- Wenger C (1984) Alkaline phosphatase. In: Kaplan LA, Pesce AJ. editors. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*. Kaplan LA., Pesce AJ. Editors. C.V. Mosby Company. St. Louis: Toronto Princeton.
- Wingerd B, Taylor PB (2020) *The human body : concepts of anatomy and physiology*.
- Wojda U, Salinska E, Kuznicki J (2008) Calcium ions in neuronal degeneration. *IUBMB Life* 60: 575–590
- Wong SP, Leong LP, William-Koh JH (2006) Antioxidant activities of extracts of selected plants. *Food Chem* 99: 775–83
- Wu G, Fang Y Z, Yang S, Lupton J R, Turner N D (2004) Glutathione metabolism and its implications for health. *The Journal of nutrition* 134(3): 489-492
- Wu J W, Hussaini S A, Bastille I M, Rodriguez G A, Mrejeru A, Rilett K, Duff K E (2016) Neuronal activity enhances tau propagation and tau pathology in vivo. *Nature neuroscience* 19(8) 1085-1092 Haass C, Willem M (2019) Secreted APP modulates synaptic activity: a novel target for therapeutic intervention? *Neuron* 101 : 557–559
- Wyllly GN R, Pedraza-Chaverri J (2014) Protective effect of curcumin against heavy metals-induced liver damage. *Food chem. Toxicol* 69: 182-201

X

- Xiao C, Srinivasan R, Drenan R (2011) Characterizing functional $\alpha 6\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors in vitro: mutant $\beta 2$ subunits improve membrane expression, and fluorescent proteins reveal responsive cells. *Biochem Pharmacol* 82: 852–61
- Xilouri M, Brekk O R, Stefanis L (2013) alpha-Synuclein and protein degradation systems: a reciprocal relationship. *Molecular neurobiology* 47: 537-551. doi:10.1007/s12035-012-8341-2 (2013).

- Xilouri M, Vogiatzi T, Vekrellis K, Park D, Stefanis L (2009) Abberant alpha-synuclein confers toxicity to neurons in part through inhibition of chaperone-mediated autophagy. *PLoS one* **4**, e5515, doi:10.1371/journal.pone.0005515 (2009).
- Xu L, Xu X, Guo L, Wang Z, Wu X, Kuang H, Xu C.(2021) Potential environmental health risk analysis of neonicotinoids and a synergist. *Environmental Science & Technology* **55**(11): 7541-7550
- Xu X, Wang X, Yang Y, Ares I, Martínez M, Lopez-Torres B, Martínez M A (2022) Neonicotinoids: mechanisms of systemic toxicity based on oxidative stress-mitochondrial damage. *Archives of Toxicology* 1-28

Y

- Yadav I C, Devi N L (2017) Pesticides classification and its impact on human and environment. *Environmental Science and Engineering* **6**: 140-158
- Yakovenko S, Drew T (2015) Similar motor cortical control mechanisms for precise limb control during reaching and locomotion. *Journal of Neuroscience* **35**(43): 14476-14490
- Yan M, Zhu Y, Zhang H J, Jiao W H, Han B N, Liu Z X, Lin H W (2013) Anti-inflammatory secondary metabolites from the leaves of *Rosa laevigata*. *Bioorganic & medicinal chemistry* **21**(11): 3290-3297
- Yang C, Zhao J, Cheng Y, Li X, and Rong J (2014) Bioactivity-guided fractionation identifies amygdalin as a potent neurotrophic agent from herbal medicine Semen Persicae extract. *Biomed. Res. Int* **2014**: 306857
- Yang J, Liu X, Bhalla K, Kim C N, Ibrado A M, Cai J, Wang X (1997) Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked. *Science* **275**(5303): 1129-1132
- Yardimci M, Sevgiler Y, Rencuzogullari E, Arslan M, Buyukleyla M, Yilmaz M (2014) Sex-, tissue-, and exposure duration-dependent effects of imidacloprid modulated by piperonyl butoxide and menadione in rats. Part I: oxidative and neurotoxic potentials. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* **65**(4): 387-397
- Yiğit D, Yiğit N, Mavi A (2009) Antioxidant and antimicrobial activities of bitter and sweet apricot (*Prunus armeniaca* L.) kernels. *Brazilian Journal of Medical and biological research* **42**: 346-352
- Young B, Woodford P, O'Dowd G (2013) *Wheater's functional histology E-Book: a text and colour atlas*. Elsevier Health Sciences.

Z

- Zabłocka A, Janusz M (2008) Dwa oblicza wolnych rodników tlenowych The two faces of reactive oxygen species. *Postepy Hig Med Dosw.(online)* **62**: 118-124
- Zalckvar E, Berissi H, Mizrachy L, Idelchuk Y, Koren I, Eisenstein M, Sabanay H, Pinkas-Kramarski R, Kimchi A (2009) DAP-kinase-mediated phosphorylation on the BH3 domain of beclin 1 promotes dissociation of beclin 1 from Bcl-XL and induction of autophagy. *EMBO Rep* **2009** **10**:285-92; PMID:19180116; <http://dx.doi.org/10.1038/embor.2008.246>
- Zalewska A, Knas´ M, Zendzian-Piotrowska M, Waszkiewicz N, Szulimowska J, Prokopiuk S, Waszkiel D, Car H (2014) Antioxidant profile of salivary glands in high fat diet-induced insulin resistance rats. *Oral Dis* **20**: 560–566
- Zhang A, Pan W, Lv J, Wu H (2017) Protective Effect of Amygdalin on LPS-Induced Acute Lung Injury by Inhibiting NF-κB and NLRP3 Signaling Pathways. *Inflammation* **40**(3): 745-751. doi: 10.1007/s10753-017-0518-4
- Zhang J J, Yi W A N G, Xiang H Y, Li M X, Li W H, Wang X Z, Zhang J H (2011) Oxidative stress: role in acetamiprid-induced impairment of the male mice reproductive system. *Agricultural sciences in China* **10**(5): 786-796
- Zhang K, Lu J, Yao L (2020) Involvement of the dopamine D1 receptor system in the anxiolytic effect of cedrol in the elevated plus maze and light–dark box tests. *Journal of Pharmacological Sciences* **142**(1): 26-33

- Zhang R, Xue G, Wang S, Zhang L, Shi C, Xie X (2012) Novel object recognition as a facile behavior test for evaluating drug effects in A β PP/PS1 Alzheimer's disease mouse model. *Journal of Alzheimer's Disease* 31(4): 801-812
- Zheng M, Qin Q, Zhou W, Liu Q, Zeng S, Xiao H, Bai Q, Gao J (2020) Metabolic disturbance in hippocampus and liver of mice: A primary response to imidacloprid exposure. *Scientific reports*10(1): 1-12
- Zhou Y, Danbolt N C (2014) Glutamate as a neurotransmitter in the healthy brain. *Journal of neural transmission* 121(8): 799-817
- Zhou Y, Lei X, Wu L, Wu X, Xu D, Li B (2014) "Outcomes of hepatectomy for noncirrhotic hepatocellular carcinoma: A systematic review." *Surgical Oncology* 23(4): 236-242

Annexes

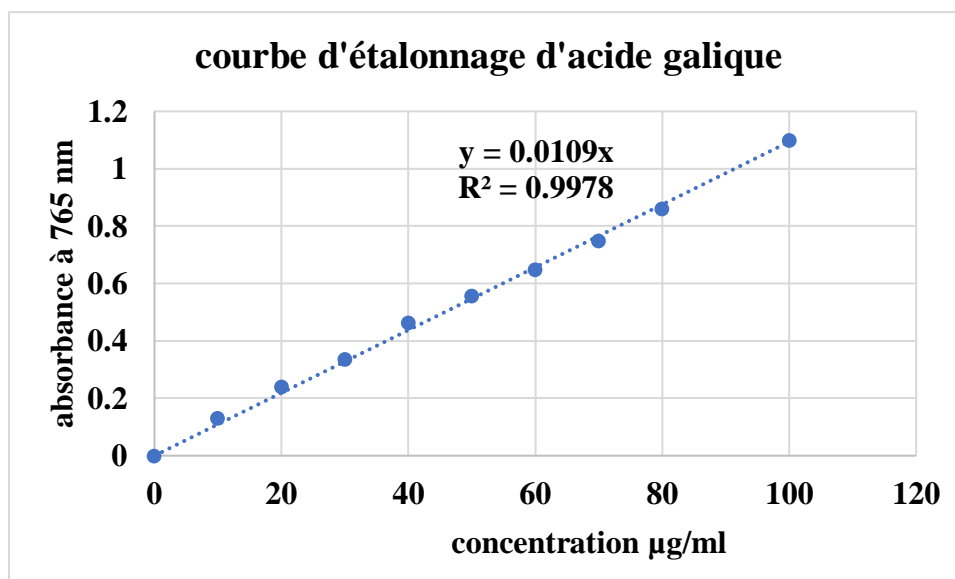
Annexe 1 : Matériels et appareils utilisée

-Eau distillée	-TCA (Trichloro acétique)	-perchlorure ferrique (FeCl ₃)
-Acide sulfurique	-Acide orthophosphorique (à 85%)	-Catéchine
-BBC (Bleu Brillant de Coomassie)	-Tris	-Chloroforme
-Ethanol (à 95%)	-BSA (Albumine sérum de bœuf)	-Glucose
-KCl	-Sodium phosphate dibasique	-NaOH
-Sodium phosphate monobasique	-EDTA (Acide éthylène diamine tétracétique)	-HCL
-DTNB (l'acide 5-5'- dithio-bis- 2nitrobénoïque)	-H ₂ O ₂	-KOH
-chlorure d'aluminium AlCl ₃	-acide nitrique	-furfural
-Folin-ciocalteau	-bicarbonate de sodium	-l'acide gallique
-la quercétine	-catéchine	-phénol
-anhydride acétique	-le nitrobleu de tétrazolium (NBT)	la riboflavine
-la méthionine	-l'acide Thiobarbiturique (TBA)	-d'hydroxyde d'ammonium
-1-chloro-2,4- dinitrobenzene (CDNB)	-liqueur de Fehling	-GSH
-TNB (acide 5-thio (2- nitrobenzoïque)	-NH ₄ OH	-CO ₃ Na

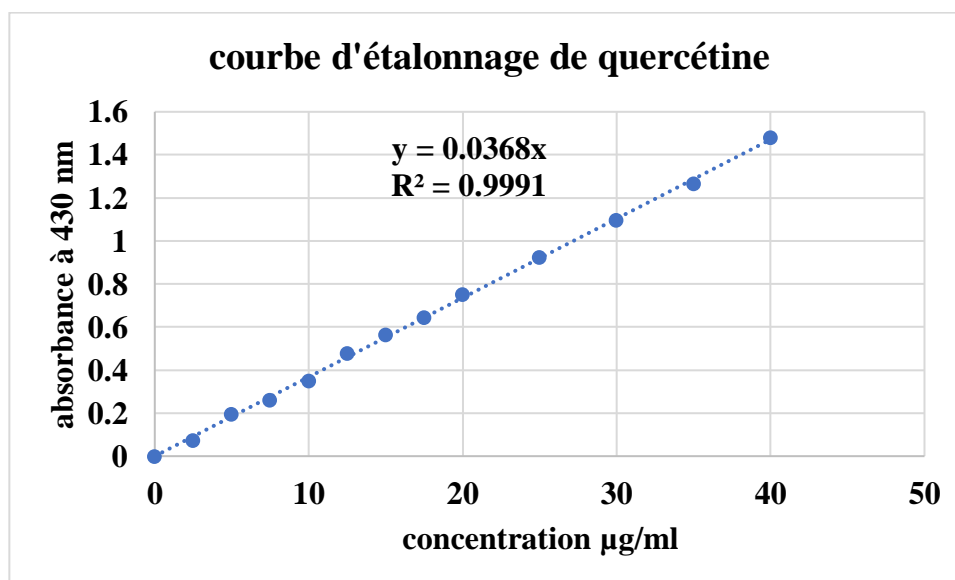
-acétylthiocholine	-d' α -naphтол alcoolique	-sulfate de cuivre
-HEPES	-NaCl	-NP-40
-SDS	-DTT	-pepstatine A
-leuceptine	-aprotine	-phénylméthylsulfonyle fluorure
-L'xylène	-Formol	-Paraffine
-glycerine	-Centrifugeuse (jenway)	-Balance analytique
-Balance de précision (KERN)	-Etuve (HERAEUS)	-pH mètre
-Agitateur magnétique (WITEG)	-Matériel de dissection	-Centrifugeuse sigma 1-15
-Réfrigérateur	-Bain marie (MEMMERT)	-Agitateur Vortex (THERMOS)
-Spectrophotomètre (jenway)	- Broyeur manuel	-Pissette
-Verre de montre	-Spatule	-Baromagnétique
-Micropipettes (10 μ l à 1000 μ l)	-Pipettes graduées	-Portoirs
-Tubes à essai	-Tubes secs en verre et en plastique	-Tubes eppendorf
-Cuves pour la spectrophotométrie (en plastique et en quartz)	-Papier d'aluminium	-Papier Wattman N° 03
-Becher	-Erlenmeyers	-Entonnoirs
-Eprouvettes graduées	-Boîte pétrie en verre et en	-Rotavapeur

plastique

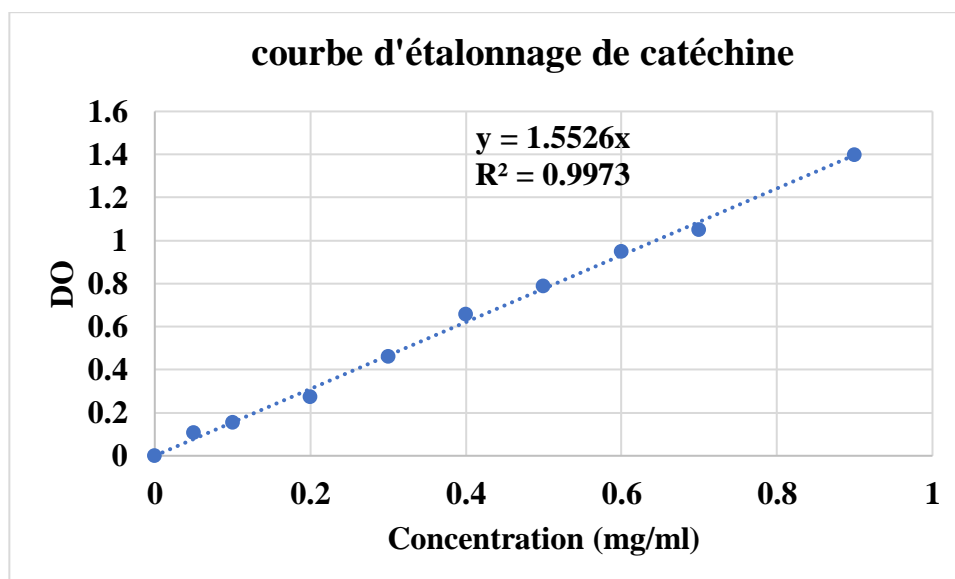
Annexe 2 : Courbe d'étalonnage pour dosage des Polyphénols



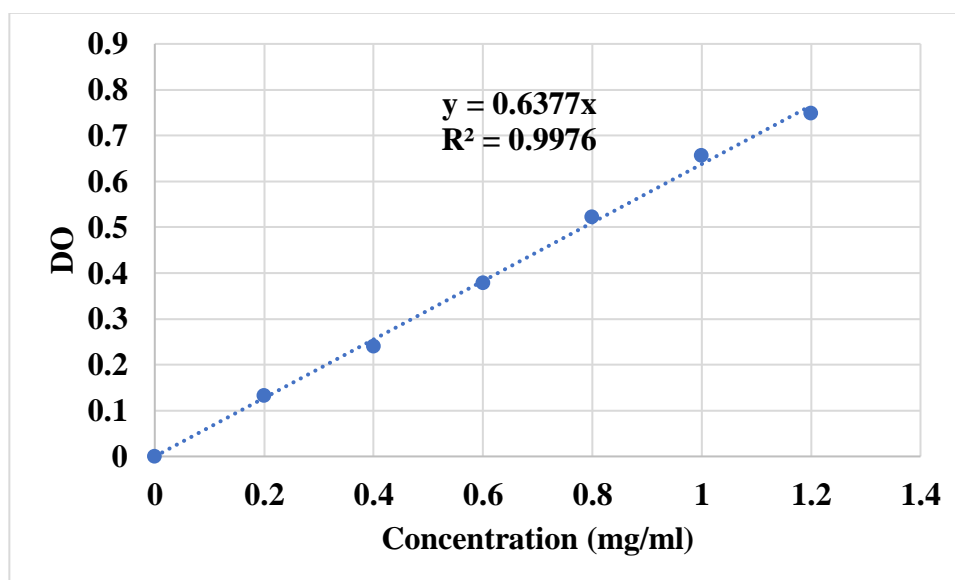
Annexe 3: Courbe d'étalonnage pour dosage les Flavonoïdes



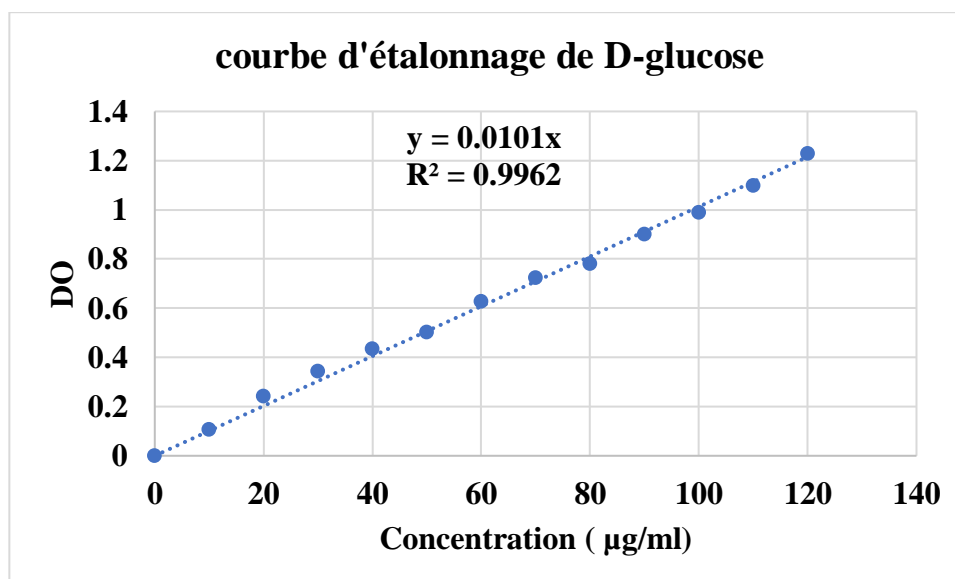
Annexe 4 : Courbe d'étalonnage pour dosage les Tanins



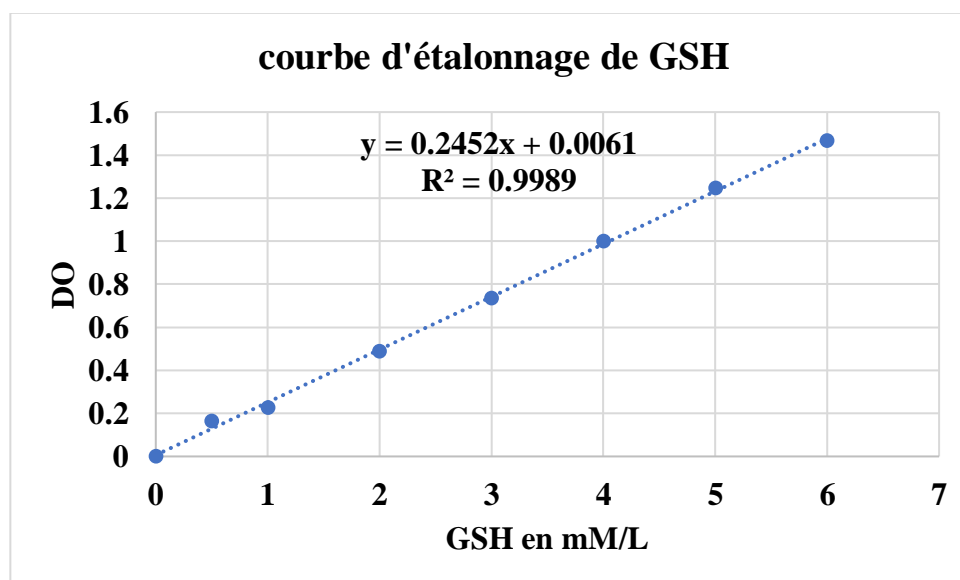
Annexe 5 : Courbe d'étalonnage pour dosage des protéines



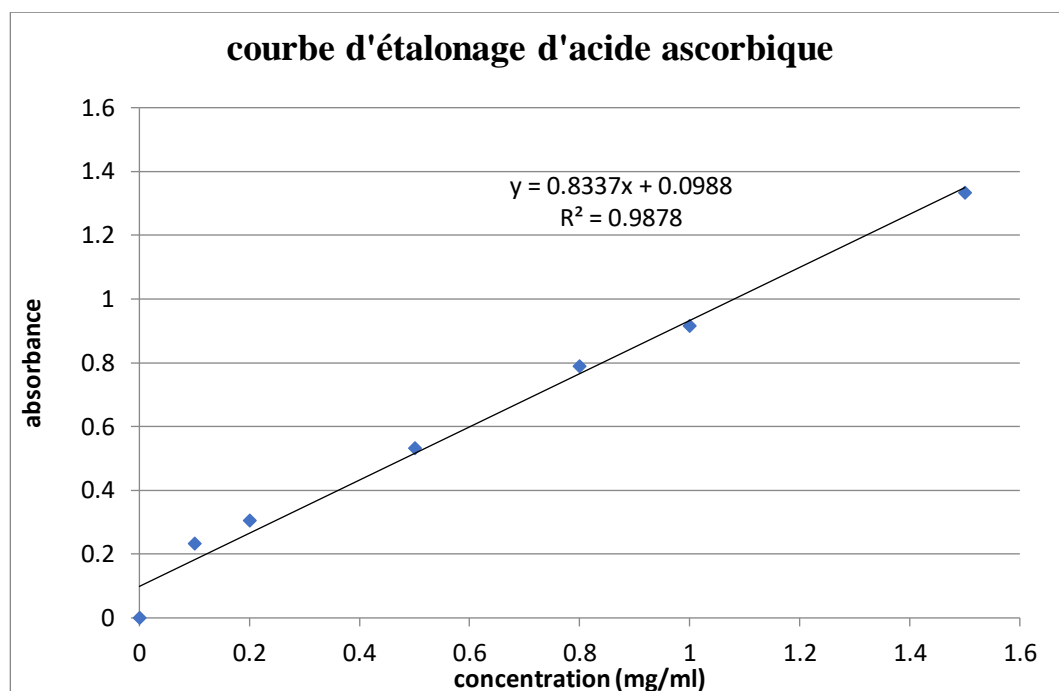
Annexe 6 : Courbe d'étalonnage pour dosage des Glucides



Annexe 7 : Courbe d'étalonnage pour dosage de GSH



Annexe 8: Courbe d'étalonnage pour l'acide ascorbique



Annexe 9: Réactif de Mayer

Solution A: 1.358 mg chlorure mercurique + 60mL eau distillée

Solution B: 5mg iodure de potassium+ 10mL eau distillée

Solution de test : solution A + solution B + compléter par l'eau distillée jusqu' à 100mL

Annexe 10: Réactif de Bradford

50mg de Blue de Coomassie G250 + 50 ml méthanol, ajouter 100 ml de H₃PO₄ (à85 %), puis ajouter 500 ml d'eau distillée, filtrer le mélange et rajouter 350 ml d'eau distillée, conserver à 4°C

Annexe 11: Réactif de Dragendorff

Solution mère : 5.2mg carbonate de Bismuth carbonate + 4mg iodure de sodium + 50mL acide acétique, bouilli pendant quelques minutes, après 12 heures. Filtrer le mélange ; 40mL de filtrat + 160 mL acétate d'ethyl + 1mL eau distillée,

Solution de test : 10mL solution mère + 20mL acide acétique + compléter par l'eau distillée jusqu'à 100mL

Annexe 12 : Equations

Convection entre g et rpm : $RCF (g)=1.118.10E-5. r. (rpm)^2$

Articles

CHRONIC THIACLOPRID EXPOSURE IMPAIRS COGNITIVE FUNCTION AND TRIGGERS MITOCHONDRIAL APOPTOSIS PATHWAY IN RAT STRIATUM AND HIPPOCAMPUS: NEUROPREVENTIVE EFFECT OF BITTER APRICOT KERNELS EXTRACT (*PRUNUS ARMENIACA L.*)

Dounia Djellal¹, Souhila Haddad², Salim Gasmi^{*3}, Zeyneb Chouit⁴, Mohamed Kebieche^{*1}, Messaoud Hachemi¹, Mourad Hanfer¹, Nouicer Ferhat⁵, Omar Bennoun⁵, Hamadi Fetoui⁶, Rachid Soulamani⁷

Address(es): Salim Gasmi & Mohamed Kebieche

¹Faculty of natural and life sciences, LMAGECA and BMBP research laboratories, University of Batna2, Route de Constantine, 05078, Fesdis, Batna, Algeria.

²Laboratoire 3BS, University of Bejaia, Algeria.

³University of Larbi Tebessi, 12002, Tebessa, Algeria.

⁴University of Mohamed Seddik Ben Yahia, Jijel, Algeria.

⁵Veterinary department, University of Batna1, Algeria.

⁶Toxicology-Microbiology and Environmental Health Unit (UR11ES70), University of Sfax, Tunisia.

⁷Université de Lorraine, Unité UR AFPA, EA3998, INRA USC 0340, MRCA, Neurotoxicologie Alimentaire et Bioactivité, BP 4102, 57040 Metz, France.

*Corresponding author: Biosalim@gmail.com & m.kebieche@univ-batna2.dz

<https://doi.org/10.55251/jmbfs.9089>

ARTICLE INFO

Received 11. 6. 2022

Revised 10. 10. 2022

Accepted 13. 10. 2022

Published 1. 12. 2022

Regular article



ABSTRACT

Thiacloprid (THI) is a nicotinic receptor agonist widely used as pesticide in Algeria, however it is susceptible to accumulate in various fruits and vegetables and pouring downstream into food plates and contributes to the development of neurodegenerative diseases. Conversely, several natural compounds are provided with cytoprotective potential and, therefore, are able to act against the harmful effects of toxicants such as pesticides. This study focused on striatum (str) and hippocampus (hipp) mitochondrial toxicity assessment, evaluation of behavioral function and intrinsic apoptosis pathway in rats exposed to THI at low-dose (0.020 mg/kg) for 3 months. In addition, this study examined neuroprotective potential of bitter apricot kernel extract when administered concomitantly with THI at the dose of 50 mg/kg. In current study, assessment of mitochondrial permeability transition pore (mPTP) and swelling, evaluation of mitochondrial redox status, cholinergic function (Ach E) and apoptosis markers (Caspase 9 and 3, Bax and Bcl2, Cytochrome c and cytosolic calcium) were performed in both brain areas, besides behavioral and histopathological examination. The results showed an increase of lipid peroxidation in both of str and hipp with a values of $1,14 \pm 0,04$ nmol/mg of proteins (pr) and $1,58 \pm 0,09$ nmol/mg pr. respectively and a significant decrease in GSH ($0,09 \pm 0,01$ mmol/mg pr. in hipp and $0,08 \pm 0,01$ mmol/mg pr. in str), the results also showed a change in the activity of antioxidants enzymes SOD ($16,37 \pm 1,09$ UI/mg pr. in hipp and $14,54 \pm 1,46$ UI/mg pr. in str), CAT ($0,010 \pm 0,01$ UI/mg pr. in hipp and $0,005 \pm 0,004$ UI/mg pr. in str), GPx ($0,01 \pm 0,001$ nmol/mg pr. in both hipp and str) and GST ($23,73 \pm 1,68$ UI/mg pr. in hipp and $17,56 \pm 1,04$ UI/mg pr. in str), as well as an abrupt increase in mPTP opening with a value of ($0,057 \pm 0,005$ in str and $0,054 \pm 0,005$ in hipp), which led to mitochondrial swelling where the level of mitochondrial swelling was ($0,016 \pm 0,002$ in str and $0,106 \pm 0,003$ in hipp), the swelling was associated also with a high releasing of Cyt-c with a values of ($4,48 \pm 1,26$ μ g/ml in str and $5,32 \pm 1,08$ μ g/ml in hipp) and Ca^{++} ($2,26 \pm 0,06$ mmol/l in str and $2,32 \pm 0,07$ mmol/l in hipp) into the cytosol, the results also showed a significant decreasing of Bcl2 ($16,4 \pm 1,86$ ng/mg pr in str and $14,8 \pm 0,82$ ng/mg pr in hipp), in the other hand the rates of caspase-9 were (278 ± 14 mAbs/mg pr.) in str and 212 ± 24 mAbs/mg pr. in hipp), caspase3 (184 ± 16 mAbs/mg pr.) in str and 250 ± 14 mAbs/mg pr. in hipp), and BAX ($0,926$ ng/mg pr in str and $1,189$ ng/mg pr in hipp) were increased. The results of this study revealed also a decrease of memorization processes and learning abilities, at the same time a decrease in Ach E activity ($14,02 \pm 0,78$ nmol/min/mg pr. in str and $22,35 \pm 1,77$ nmol/min/mg pr. in hipp) was recorded. Inversely, bitter apricot kernels extract showed higher cytoprotective potential against THI neurotoxicity, since mitochondrial redox homeostasis and membrane integrity were recovered, cognitive impairment and brain tissue damage were also prevented. In conclusion, THI induced mitochondrial disorders, triggered apoptosis signaling pathway and impaired cognitive functions which were prevented by bitter apricot kernels extract when associated with this pesticide.

Keywords: Thiacloprid, Extract, Striatum, Hippocampus, Cognitive function, Mitochondrial apoptosis

INTRODUCTION

It is recognized that the benefits of pesticides are inherent in crop protection and in increasing economic potential in agriculture and human health by increasing agri-food and crop production and controlling some disease-carrying insects (Messiad et al. 2015). However; The main reason for their toxicity could be the presence of similar targets in both pests and non-target species, including humans. Neonicotinoids (NNs) are considered to be the most important synthetic pesticides used to control harmful insects in plant and animal health over the last few decades and were able to bind to nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs), causing excitation, abnormal paralysis and death of harmful organisms, developed to replace organophosphorus and carbamate insecticides (Schaafsma et al. 2015; Pang et al. 2020). However, if these pesticides have a potent agonist against nAChRs of target insects, there is multiple evidence that these pesticides have low affinity for the same receptors in vertebrates (Costas-Ferreira and Faro 2021), raising the question of how neonicotinoids might act for animal non-target organisms can be neurotoxic. It has been reported that the toxicity of NN focuses

on the cellular and molecular integrity of the organism, resulting in carcinogenic, endocrine disorders (Sekeroglu et al. 2014), neurotoxic (Cimino et al. 2017), hepatotoxic effects (Alarcan et al. 2020). Among the most commonly used NNs in Algeria is Thiacloprid (THI), (Z)-N-[3-(6-Chloro-pyridin-3-ylmethyl)-thiazolidin-2-ylidene]cyanamide, an organochlorinated insecticide of the family the chloropyridinyl neonicotinoids (Galdikova et al. 2019). This insecticide was registered in 2000 under the trade name Calypso 480SC (480 g.L-1) (Schwarzbacherov et al. 2019). The mode of action of this pesticide in target organisms is to interrupt the transmission process of nerve impulses after its binding to nAChRs in neurons (Galdikova et al. 2019). Literature data indicate that THI is toxic to mammals at both acute and chronic exposures at low or high doses, causes neurotoxicity and attenuates locomotor activity in rats treated with 3.1 mg/kg body weight THI (Vivek et al. 2020). In addition, a previous study showed that this pesticide can cause central nervous system disorders (Alzheimer's disease, Parkinson's disease, schizophrenia, depression), which were thought to be associated with a change in the density of the nAChRs subtype in rats who have been exposed to high doses of THI (Cimino et al. 2017). It is worth noting that the



Potential of the apoptotic signaling pathway in both the striatum and hippocampus and neurobehavioral impairment in rats exposed chronically to a low-dose of cadmium

Zeyneb Chouit¹ · Dounia Djellal² · Souhila Haddad³ · Mourad Hanfer² · Messaoud Hachemi² · Zhoura Lakroun¹ · Smail Chafaa² · Hamadi Fetoui⁴ · Mohamed Kebieche^{1,2}  · Rachid Soulimani⁵

Received: 1 June 2020 / Accepted: 6 September 2020
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2020

Abstract

Cadmium (Cd) is a highly toxic heavy metal. It accumulates in biological tissues, especially in fish which constitutes a first rank food for humans, particularly in the coastal areas. This study investigates the effect of long-term exposure to low Cd concentration (17 µg/kg/day) in rat striatum and hippocampus. In this study, the neurobehavioral ability changes were assessed by applying cognitive standard testing at the end of the rats' exposure period. In addition, the examination of mitochondrial swelling was performed at the same time of evaluation of its redox status in the brain regions studied through stress parameters (GSH, MDA, GST, and CAT). This study examined also whether this long-term exposure can modify the apoptotic signaling pathway via assessment of apoptotic markers (caspase-8 and 9, Bax, Bcl-2, and Cyt-c) in cell lysates. The results of this study showed changes in neurobehavioral abilities of animals and a stronger mitochondrial swelling associated with a significant decrease in antioxidant systems (GSH, GST, and CAT) and conversely an increase in the lipoperoxidation end product (MDA) in both the striatal and hippocampal mitochondria. In addition, the results revealed a significant increase in pro-apoptotic intracellular components such as caspase-9, Cyt-c, and Bax, and showed also an evident decrease in Bcl-2 levels. In conclusion, our results reported that chronic exposure to Cd produces behavioral and cognitive perturbations, enhances oxidative stress associated with mitochondrial edema and Cyt-c leakage, and, ultimately, potentiates apoptosis signaling pathway in both brain regions in rats.

Keywords Cd · Striatum · Hippocampus · Neurobehaviour · Oxidative stress · Apoptosis

Responsible Editor: Mohamed M. Abdel-Daim

✉ Mohamed Kebieche
kebiechem2016@gmail.com

- ¹ Laboratory of cellular and molecular biology, University of Mohamed Seddik Ben Yahia, Jijel, Algeria
- ² Faculty of natural and life sciences, LBMBPC, University of Batna 2, Route de Constantine, 05078, Fesdis, Batna, Algeria
- ³ Faculty of natural and life sciences, University of Abderrahmane Mira, Bejaia, Algeria
- ⁴ Toxicology-Microbiology and Environmental Health Unit (UR11ES70), University of Sfax, Sfax, Tunisia
- ⁵ Unité UR AFPA, EA3998, INRA USC 0340, MRCA, Neurotoxicologie Alimentaire et Bioactivité, Université de Lorraine, BP 4102, 57040 Metz, France

Introduction

Over the past two decades, the industrial revolution and technological development have led to high discharges of toxic products, which considerably complicate environmental problems and their impacts on public health (Andra et al. 2017; Andjelkovic et al. 2019). Among these pollutants, Cd is a non-biodegradable industrial and environmental pollutant widely distributed which could be concentrated in the food chain (Pi et al. 2017). However, Cd, in minute quantities, has delirious effects in the body causing acute and chronic toxicities in humans (Wang et al. 2015). Recently, the studies of Abdeen and his collaborators (2017, 2019), on the effect of Cd in rat liver and kidney, showed significant increases in MDA and reduction in GSH and CAT contents in parallel to mitochondrial damage, accumulation of unfolded proteins, DNA oxidation, and upregulation of Bax and Bcl-2 expression. The U.S. Agency for the Toxic Substances and Disease Registry

EVALUATION OF MITOCHONDRIAL AND NEUROBEHAVIORAL DISORDERS IN BRAIN REGIONS OF OFFSPRING (F1, F2) AFTER GESTATING AND LACTATING FEMALE RATS EXPOSURE TO LOW-DOSE OF IMIDACLOPRID AND CYPERMETHRIN

Souhila Haddad¹, Zeyneb Chouit², Dounia Djellal², Salim Gasmi³, Messaoud Hachemi⁴, Mourad Hanfer⁵, Djamila Zama⁶, Mohamed Kebieche², Rachid Soulimani⁷

Address(es): Salim Gasmi & Mohamed Kebieche,

¹Laboratoire de Biomathématique, Biophysique, Biochimie et Scientométrie, University of Bejaia, Algeria.

²Faculty of natural and life sciences, LMAGECA and MBMP research laboratories, University of Batna2, 05078, Fesdis, Batna, Algeria.

³University of Larbi Tebessi, 12002, Tebessa, Algeria.

⁴University of Mohamed Seddik Ben Yahia, Jijel, Algeria.

⁵Veterinary department, University of Batna1, Algeria.

⁶University of Constantine, Constantine Algeria.

⁷Neurotoxicology, développement & Bioactivité, LCOMS, Campus Bridoux, Université de Lorraine, France.

*Corresponding author: salim.gasmi@univ-tebessa.dz & m.kebieche@univ-batna2.dz

<https://doi.org/10.55251/jmbfs.9541>

ARTICLE INFO

Received 15. 10. 2022

Revised 17. 1. 2023

Accepted 18. 1. 2023

Published 1. 4. 2023

Regular article



ABSTRACT

The imidacloprid (IMID) and cypermethrin (CYP) pesticides are known to have neurotoxic effects and negative brain developmental consequences when used separately, but little is known about the consequences of using them as a mixture. That could be passed down from one generation to the next. In this context, we were interested in studying the effect of oral exposure of female rats during gestation and throughout the lactational period to real doses of IMID (1.2 mg/kg) and CYP (6.7 mg/kg) either alone or in a mixture on behavior and mitochondrial redox status. The first and second generation pups were followed from birth to juvenile age using a series of tests to assess reflex, coordination and general motor function, including surface righting, cliff aversion, negative geotaxis and the muscle strength test. At PND 21, cholinergic function, oxidative stress and mitochondrial integrity were assessed in the striatum and hippocampus. Our results showed that IMID and CYP, alone or in combination, induced decreased body weight gain, impaired neurobehavioral performance, and AChE inhibition. Oxidative stress markers including GSH level and SOD, CAT, GST and GPx activities showed a significant decrease. While, lipid peroxidation which was assessed by MDA assay, cytosolic calcium level, swelling and mitochondrial permeability recorded a significant increase. In conclusion, the disruption of mitochondrial redox homeostasis and the presence of neurobehavioral disorders even in the offspring of the F2 generation suggests that independent and combined exposure to IMID and CYP during a critical period of development has irreversible effects; long-lasting and persistent.

Keywords: Imidacloprid, Cypermethrin, Neurobehavior, Striatum, Hippocampus, Mitochondria, Oxidative stress, Rats

INTRODUCTION

The fetal period and early life are important stages when optimal brain development is assured. This is when the basic structure of the brain is built. This construction involves a series of processes that are particularly vulnerable to chemical stressors including pesticides. Impairment of this process could disrupt homeostasis, thereby increasing the risk of neurodegenerative disorders (Sunyer and Dadvand, 2019). Several studies have shown that exposure to pesticides is not only through inhalation, skin absorption or ingestion of contaminated food and water but also through the placenta and breast milk during critical periods of development (Dewailly *et al.*, 2014). The use of pyrethroids and neonicotinoids has registered a significant increase due to their efficiencies and wide range of application; they are also less toxic to non-target organisms and efficiently degradable. These two families are considered green pesticides compared to organophosphates. However, the effect of their low concentrations on wildlife, especially bees, as well as humans, remains of concern (Zeljetic *et al.*, 2017). The nervous system is the primary target of CYP, a pyrethroid that exerts a neurotoxic effect through voltage-gated sodium channels. Once this insecticide binds to the α subunit of the sodium channel, the latter remains in an open position, thus allowing a prolonged passage of sodium and a depolarization of the membrane and ends up disrupting neuronal transmission. Exposure to this pyrethroid also influences other channels such as voltage-gated calcium and potassium channels; it decreases dopamine and acetylcholine levels as it alters key enzymes involved in the synthesis and metabolism of neurotransmitters such as adenosine triphosphatases and AChE (Raszewski *et al.*, 2016). In laboratory animals, intranasal exposure of mice to 5 and 20 mg/kg of CYP during gestation and lactation has been linked to mitochondrial dysfunction as a mechanism of developmental neurotoxicity (Laugeray *et al.*, 2017). Another study conducted on

mice indicates that exposure to CYP results in the release of Ca²⁺ and free radicals leading to DNA damage and cell death (Maurya, *et al.*, 2014).

Neonicotinoids such as IMID act by binding to the $\alpha 4$ and $\beta 2$ subunits of the nicotinic postsynaptic acetylcholine receptors (nAChRs) of mammals. The neurotoxicity of this class is manifested by the inhibition of acetylcholinesterase, thereby reducing the ability of this enzyme to break down acetylcholine in the synapses, which subsequently leads to continuous overstimulation of nerves and muscles. Prenatal exposure to its chemicals affects the formation of neural circuits in several regions of the brain that are involved in the regulation of depression, anxiety, memory and learning (Sano *et al.*, 2016).

Osaka *et al.*, 2016 reported the presence of metabolites of the neonicotinoid Thiamotoxam in the urine of young children. The increased resistance of pests to a single pesticide application has made it necessary to use a cocktail of these chemicals in order to increase its speed of action (Shittu *et al.*, 2021). Therefore, the combined effect of this mixture can lead to a joint interaction between the chemicals thus altering the absorption, biotransformation, distribution and elimination of one on the other and subsequently causing the appearance of new metabolites which could be more dangerous in comparison with the basic preparation, which makes the question of the risk for ecology and human health even more serious (Aouey *et al.*, 2017).

To our knowledge, the CYP and IMID cocktail has not been studied for its transgenerational neurotoxic effects in mammals. Therefore, the objective of this study was to evaluate the toxicity of these pesticides alone or in mixture by examining their effects on neuromotor development, mitochondrial integrity and oxidative damage in the striatum and hippocampus of pups of generations F1 and F2 born to mothers (F0) exposed during gestation and throughout the lactation period.



Cognitive and Mitochondrial Alterations in Rat Striatum and Hippocampus Exposed to Imidacloprid: The Protective Role of Catechins

Souhila Haddad¹ · Zeyneb Chouit² · Dounia Djellal³ · Messaoud Hachemi⁴ · Mourad Hanfer^{3,5} · Ferhat Nouicer⁸ · Omar Bennoune⁸ · Zhoura Lakroun² · Djamila Zama⁶ · Mohamed Kebieche³ · Rachid Soulimani⁷

Received: 28 January 2022 / Revised: 10 March 2022 / Accepted: 15 March 2023
© The Author(s), under exclusive licence to The National Academy of Sciences, India 2023

Abstract The focus of this study was to investigate the effect of chronic exposure to imidacloprid (IMID) on the neurotoxicity and protective role of catechins in rats. Imidacloprid (1.2 mg/kg/day: realistic dose) and catechins (20 mg/kg/day) were administered orally for 90 days. In this animal experiment, mitochondrial membrane permeability, matrix redox status, cholinergic function and cognitive function were evaluated in the rat striatum and hippocampus. Chronic exposure to imidacloprid has resulted in significant decreases in mitochondrial glutathione (GSH) rate and catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) activity, while glutathione-S-transferase (GST) activity Malondialdehyde (MDA) and cytosolic calcium (Ca²⁺) levels were significantly increased. The same results showed an improvement in mitochondrial membrane permeability as well as an increase in mitochondrial edema. In addition, assessment of cholinergic function revealed a decrease in acetylcholinesterase (AChE) activity alongside

behavioral and cognitive disorders such as muscle weakness, anxiety, memory loss and learning ability. Conversely, these results indicate that catechins protected brain regions from mitochondrial and cognitive impairment by imidacloprid. Finally, these results showed that chronic exposure to IMID is associated with loss of mitochondrial integrity, dysfunction of the cholinergic system, and impairment in neurobehavior and cognitive ability. In addition, catechins showed neuroprotective potential against pesticide neurotoxicity generated in both regions of rat brain.

Keywords Imidacloprid · Behavioral deficits · Striatum · Hippocampus · Mitochondrial alterations · Catechins

Introduction

It is widely recognized that pesticides are essential for improving agricultural crops and controlling plant diseases, but their side effects could affect other ecosystems and living organisms that these crop protection products do not target. In fact, the prolonged and uncontrolled use of these chemicals has indirect negative effects on many other living

Significance statement: In this study, imidacloprid induced disruption of mitochondrial membrane permeability and swelling, and cognitive potential disorders in rat striatum and hippocampus, while catechins prevented these abnormalities when administered with this pesticide.

✉ Mohamed Kebieche
kebiechem2016@gmail.com

- 1 Laboratoire de Biomathématique, Biophysique, Biochimie et Scientométrie, University of Bejaia, Béjaia, Algeria
- 2 University of Mohamed Seddik Ben Yahia, Jijel, Algeria
- 3 BMBP Laboratory, Faculty of Natural and Life Sciences, University of Batna 2, Route de Constantine, 05078 Fesdis, Batna, Algeria
- 4 Laboratory of Biotechnology of Bioactive Molecules and Cellular Pathophysiology, University of Batna 1, Batna, Algeria

- 5 Laboratory of Biology and Environment, University of Mentouri Brothers, Constantine, Algeria
- 6 Research Unit: VNRBM, PBA, University of Mentouri Brothers, Constantine, Algeria
- 7 Unité UR AFPA, EA3998, INRA USC 0340, MRCA, Neurotoxicologie Alimentaire et Bioactivité, Université de Lorraine, BP 4102, 57040 Metz, France
- 8 Veterinary Department, University of Batna 1, Batna, Algeria

Hepatoprotective effect of sandfish "*Scincus scincus*" extract on cadmium-induced hepatotoxicity in rats

Ramzi Lamraoui^{1,2}, Messaoud Hachemi¹, Djalel Eddine Gherissi^{2*}, Fatima Laabassi¹, Dounia Djellal¹, Naima Kadrine³, Souhila Haddad⁴, Sameh-Echourouk Saoudi¹, Zineb Chouit⁵, Zineb Djellal¹, Meriem Fellahi¹, Faicel Chacha⁶

¹Department of Biology of Living Organisms, Faculty of Natural and Life Sciences, University of Batna 2, Batna (05110), Algeria

²Laboratory of Animal Productions, Biotechnologies and Health, Institute of Agronomic and Veterinary Sciences, University of Souk-Ahras, BP 41000, Algeria

³Department of Veterinary Sciences, University of Batna 1, Batna, Algeria

⁴Laboratory of Biomathematics, Biophysics, Biochemistry and Scientometry, University of Bejaia, Algeria

⁵Laboratory of Cellular and Molecular Biology, University of Jijel, Algeria

⁶Biotechnology Research Center, PO E73 .NU N° 03 Constantine, Algeria

Received:

February 02, 2022

Accepted:

July 18, 2022

Published Online:

September 19, 2022

Abstract

Hepatotoxicity is defined as injury to the liver or impairment of the liver function after exposure to various risk factors. This study was planned to investigate hypothesis of hepatoprotective effect of sandfish (*Scincus scincus*) consumed for its health virtuous by local Saharan peoples from Algeria. For this purpose, sandfish extract benefits against cadmium chloride (CdCl₂)-induced liver toxicity in rats was evaluated. The rats (n=23) were divided into 4 groups; the control group (n= 5) received a vehicle, the extract group (n= 5) received via gavage sandfish extract (100mg/kg), Cadmium group (n= 6) received CdCl₂ (1 mg/kg, intraperitoneal injection), cadmium +extract group(n= 7) received after the single injection of CdCl₂(1mg/kg) the sandfish extract (100 mg/kg, orally).The experimentation was performed over 56 days. Body weight, relative liver weight (LW) and biochemical parameters namely glucose, triglycerides, cholesterol, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin (TB) and direct bilirubin (DB) were measured. Glutathione (GSH) and Malondialdehyde (MDA) activities were measured to evaluate the changes in antioxidative system and lipid peroxidation activity in liver tissues. Relative LW, MDA, ALT and TB were significantly increased by CdCl₂ treatment. The treatment with sandfish extract after CdCl₂ injection reduced significantly ALT, AST and TB. The GSH level was significantly altered (0.19±0.05 mg/g) by Cd treatment, which was recovered (0.43±0.08 mg/g) after that by sandfish extract gavages. In conclusion, inclusion of sandfish in rat diet showed significant evidences of hepatoprotective effect in response to acute Cd hepatotoxicity.

Keywords: Biochemical parameters, Cadmium, GSH, Hepatoprotective effect, *Scincus scincus*

How to cite this:

Lamraoui R, Hachemi M, Gherissi DE, Laabassi F, Djellal D, Kadrine N, Haddad S, Saoudi SE, Chouit Z, Djellal Z, Fellahi M and Chacha F. Hepatoprotective effect of sandfish "*Scincus scincus*" extract on cadmium-induced hepatotoxicity in rats. Asian J. Agric. Biol. xxxx(x): 2021010. DOI: <https://doi.org/10.35495/ajab.2021.010>

*Corresponding author email:
biotech.zootech@gmail.com

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 3.0 License. (<https://creativecommons.org/licenses/by/3.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

