

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Ghardaia



Faculté des Sciences de la Nature et de Vie et Sciences de la Terre

Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

En : Science biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Par : - Belhadj Aissa Djihad

- Bellaouar Rahel

Thème

L'effet de pesticide Methomyl sur la réactivité des astrocytes et la morphologie des neurones pyramidaux au niveau du CA1 de l'hippocampe chez le rat *Wistar Albino*.

Soutenu publiquement, le 26 / 06 / 2019 , devant le jury composé de :

M/GHANIA A	Maitre Assistant B	Univ. Ghardaia	Président
M/ KHENE M.A	Maitre Assistant A	Univ. Ghardaia	Directeur de mémoire
Melle/ KEBILI Z	Maitre de conférences A	Univ. Ghardaia	Examinatrice

Année universitaire : 2018 /2019

Remerciements

Remerciements

Nous tiens à remercier en quelques lignes tous ceux qui, de près ou de loin ont contribué à ce travail et qui nous aidée lors de la rédaction de cette mémoire, en espérant n'oublier personne.

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

*Nous voudrions dans un premier temps remercier, notre directeur de mémoire Monsieur **KHENE M.A** pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils.*

Nous adressent nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont répondu à nos questions durant notre recherches.

*Nos respect et reconnaissance sont adressés à Monsieur **GHANIA. A** professeur à l'université de Ghardaia, qui nous fait l'honneur de présider le jury de soutenance.*

*Nous exprimons nos remerciements à Melle **KEBILI. Z**, professeur à l'université de Ghardaia, qui nous fait l'honneur de participer au jury de cette mémoire en tant qu'examinatrice.*

Nous exprimons nos vifs remerciements à tous les membres de département de biochimie à l'université de Ghardaia surtout au techniciens de laboratoire, nous tiennent à le remercier, pour ces aides précieuses au niveau de laboratoire.

Nous remerciant nos très chers parents, qui ont toujours été là, pour leurs soutien constant, Nous remerciant aussi nos sœurs et frères, pour leurs encouragements.

En fin, nous voudrions exprimer nos reconnaissances envers les amis et collègues qui nous apporté leur soutien inconditionnel et leur encouragements tout au long de notre démarche.

Dédicaces

Dédicaces

A nos chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de nos études,

*A nos chères sœurs, **Khawla** et **Intissar** pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,*

*A nos chers frères, spécialement **Rachid** pour leur appui et leur encouragement,*

A toutes nos familles pour leur soutien tout au long de notre parcours universitaire,

A ceux qui nous ont partagés toutes les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail. Ils nous ont chaleureusement supportés et encouragés.

*A nos proches **Mustapha** et **Mehdi** qui nous donnent de l'amour et de vivacité.*

A nos amis qui nous ont toujours encouragés, et qui nous souhaitent plus de succès

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible,

Résumé

Résumé

Au cours de la dernière décennie l'utilisation massive et abusive des pesticides entraîne des effets néfastes sur l'environnement et la santé et plus précisément le système nerveux. Dans ce travail nous allons étudier l'effet neurotoxique de methomyl (MET) sur la réactivité des astrocytes et les neurones pyramidaux de la zone CA1 de l'hippocampe après une exposition sub-chronique.

Six rats Wistar adultes mâles reçoivent par gavage une dose de 1/16 de DL₅₀ du MET dissout dans de l'eau distillée et 6 rats témoins reçoivent de l'eau distillée, pendant 28 jours. À la fin de l'expérimentation, les rats sont sacrifiés et les cerveaux sont prélevés. La morphométrie des neurones pyramidaux de la région CA1 a été examinée par coloration de Nissl et la réactivité des astrocytes au niveau de la barrière hémato-encéphalique a été aussi étudié.

Nos résultats ont montré que l'exposition au MET provoque des altérations morphologique au niveau des neurones pyramidaux de la zone CA1 de l'hippocampe sous forme d'une diminution de la surface de corps cellulaires avec la présence de certaines cellules nécrotiques. Nous avons également noté des altérations au niveau de la barrière hémato-encéphalique démonté par une surexpression de la GFAP (la protéine acide fibrillaire gliale), une expression anormale et une co-localisation élevées des cellules astrocytaires dans le cytoplasme et autour les vaisseaux sanguins au niveau de l'hippocampe. Ce qui conduit à des modifications structurales de la forme de cerveau et de la structure spéciale de l'hippocampe.

L'ensemble de ces résultats montre bien que l'exposition au MET provoque des perturbations structurales pour les neurones et les astrocyte au niveau de l'hippocampe ce qui pourrait engendrer l'augmentation de l'incidence de certaines pathologies neurologique.

Mots clés : Methomyl, hippocampe, CA1, neurone pyramidale, la barrière hémato-encéphalique.

Listes des figures

Figure	Titre	Page
1	Modes d'expositions de l'homme aux pesticides.	06
2	Structure de base de l'acide carbamique	07
3	Structure chimique du méthomyl	08
4	Organisation fonctionnelle du système nerveux	12
5	L'anatomie du cerveau	13
6	Structure des hémisphères cérébraux	14
7	Structure d'un neurone	15
8	Les différents types des neurones	16
9	Schéma représentatif des différents types cellulaires du SNC. (Code couleur : jaune = neurone, mauve = astrocytes vert = oligodendrocytes, bleu = microglies, rose = épendymocytes, rouge = vaisseaux sanguins).	17
10	Coupe transversale d'un vaisseau cérébral	19
11	A : Rats Wistar ; B : Administration de traitement par gavage.	21
12	L'effet de methomyl sur l'épaisseur de la couche cellulaire pyramidale CA1 après 28 jours de traitement. (A) : control. (B) : Traité par le methomyl (coloration de Nissl Gx400).	28
13	La surface de corps cellulaire dans l'hippocampe CA1 après 28 jours de traitement. (A) : control. (B) : Traité par le methomyl (coloration de Nissl G x400).	29
14	L'effet de Methomyl sur la barrière hémato-encéphalique au niveau de l'hippocampe après 28 jours de traitement (A) : control. (B) : Traité par le methomyl (coloration de Nissl G x100).	31
15	Coupe histologique représente l'effet de Methomyl sur la morphologie des corps cellulaires au niveau du CA1 après 28 jours de traitement (A) : control. (B) : Traité par le methomyl (coloration de Nissl G x100).	31

Liste des tableaux

Tableau	Titre	page
1	Propriétés physicochimiques du MET	09
2	Valeurs de la toxicité aiguë du methomyl chez les mammifères	10
3	Mode opératoire de coloration de Nissl	24-25
4	Mode opératoire de l'immunohistochimie	26-27
5	Représentation de l'épaisseur de la couche cellulaire pyramidale CA1 après 28 jours de traitement.	28
6	Représentation de la surface du corps cellulaire (μm^2).	30

Liste des abréviations

AChE : Acétylcholinestérase.

BHE : Barrière Hémato-Encéphalique.

CA1 : Corne d'Amone 1.

DL50 : Dose Létale 50.

GFAP : Protéine Acide Fibrillaire Gliale.

MET : Methomyl.

MOY : Moyenne.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

OPs : Organophosphorés.

SEM : Standard Error of the Mean.

SN : Système Nerveux.

SNA : Système Nerveux Autonome.

SNC : Système Nerveux Centrale.

SNP : Système Nerveux Périphérique.

SNS : Systèmes Nerveux somatique.

RESUMES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE..... 01

CHAPITRE I : Etude bibliographique.....05-21

1. Les pesticides.....05-12

1.1 Définition.....05

1.2 Classification des pesticides.....05-06

1.2.1 Selon la structure chimique.....06

1.2.2 Selon la persistance dans la nature.....06

1.2.3 Selon le cible visée.....06

1.3 Modes d'expositions de l'homme aux pesticides.....06-07

1.4 Les insecticides carbamates.....07

1.5 Toxicocinétique des carbamates.....08

1.6 Le methomyl.....09-12

1.6.1 Définition.....09

1.6.2 Identité et propriétés physicochimiques du méthomyl.....09-10

1.6.2.1 Identité.....09

1.6.2.2 Propriétés physicochimiques.....	10
1.6.3 Effets toxicologiques du methomyl.....	10-11
1.6.4 Mode d'action.....	12
1.6.5 Utilisation et efficacité.....	12
1.6.6 Sources d'exposition environnementale et humaine.....	12
2. Le système nerveux.....	12
2.1. Le système nerveux central (SNC).....	13
2.2. Le système nerveux périphérique (SNP).....	13
2.3 La moelle épinière.....	14
2.4 Le cerveau.....	14-15
2.4.1 Hippocampe.....	15
2.5. Neurone.....	16
2.5.1 Propriétés des neurones.....	16
2.5.2 Types des neurones.....	16-17
2.5.2.1 Les neurones pyramidaux.....	17
2.6. Les cellules gliales.....	17
2.6.1 Les astrocytes.....	18
2.6.2 Classification des astrocytes.....	19
2.6.3 Rôle des astrocytes.....	19
2.7. La barrière hémato-encéphalique (BHE).....	19-21
Chapitre II : Matériel et méthodes.....	23-29
1. Matériel biologique.....	23-24
2. Méthodes.....	25-29

2.1. Coloration de Nissl.....	25-27
2.1.1. Applications.....	25
2.1.2. Mode opératoire.....	25-27
2.2. Immunohistochimie (IHC).....	27-29
2.2.1. Mode opératoire.....	27-29
3. Analyse de données.....	29-30

Chapitre III : Résultats et Discussion.....32-38

1. Résultats.....	32-35
1.1. L'effet de methomyl sur la zone CA1 de l'hippocampe après 28 jours de traitement.....	32-35
1.1.1. Epaisseur de la couche cellulaire pyramidale CA1.....	32-33
1.1.2. La surface de corps cellulaire dans l'hippocampe CA1.....	33-34
1.1.3. L'effet de Methomyl sur la barrière hémato-encéphalique au niveau de l'hippocampe après 28 jours de traitement.....	34-35
1.1.4. L'effet de Methomyl sur la morphologie des corps cellulaires au niveau du CA1 après 28 jours de traitement.....	35
2. Discussion.....	36-38

Conclusion et perspective.....40

ANNEXES

LISTE DES REFERENCES

Introduction générale

Introduction générale

Les pesticides, encore appelés produits phytosanitaires, reconnus comme de substances chimiques utilisées pour la croissance, la prévention ou l'élimination d'organismes nuisibles aux végétaux. Ils sont largement utilisés en agriculture et en santé communautaire, comme dans l'environnement domestique sous forme de spécialités contre les poux, de médicaments vétérinaires, d'insecticides ménagers, de produits de jardinage. **(Testud et Grillet, 2007; Djeffal, 2014; El Mrabet, 2008).**

Compte tenu de sa surface agricole qui représente la moitié de son territoire, en France les insecticides représentent 10,6 % du marché des produits phytosanitaires, le 1^{er} consommateur européen. Elle consomme environ 100000 tonnes de substances actives par an. Ces produits sont très employés dès la fin de la seconde guerre mondiale, ils constituent un enjeu important pour la qualité de notre alimentation et de notre environnement. **(Testud et Grillet, 2007; Djeffal, 2014; El Mrabet, 2008).**

En effet, à cause de leurs toxicités, les pesticides représentent un véritable danger à la fois pour l'environnement et également pour la santé humaine, surtout s'ils ne sont pas utilisés dans les conditions appropriées. L'explosion démographique de la population mondiale et ses besoins alimentaires et sanitaires sont les principales raisons qui conduisent à l'augmentation spectaculaire de la production et l'utilisation des pesticides susceptibles d'engendrer l'apparition de plusieurs maladies telles que le cancer...etc. Cette large diffusion d'utilisation porte beaucoup plus l'exposition des agriculteurs et les ouvriers industriels aussi bien que la contamination de nourriture **(El-Hassani et al., 2008; Stoytcheva, 2011 ; Djeffal, 2014).**

De nombreuses études ont montré que les pesticides sont toxiques pour l'organisme animal, en provoquant des troubles neurologiques et psychiatriques (l'anxiété et la dépression...etc.), le dysfonctionnement de l'activité locomotrice, l'apprentissage et la fonction de mémorisation **(El Hassani et al., 2008).**

Le méthomyl (MET), est un insecticide anticholinestirase de type carbamate utilisé partout dans le monde sur toutes sortes de cultures. Vu leur utilisation intensive, il a

provoqué de grave problèmes environnementaux et des risques pour la santé (**EFSA, 2008 ; Tomlin, 2009**).

C'est en effet un composé puissamment toxique pour le système nerveux, central et/ou périphérique, sa neurotoxicité explique à la fois son efficacité sur les insectes et son effet toxique chez l'homme (**Djeffal, 2014**).

Son usage est suspecté d'augmenter l'incidence de certaines pathologies neurologique (**Khene et al., 2017**). Il est un facteur de risque pour la neuroplasticité au niveau de l'hippocampe, une petite structure sous-corticale joue un rôle clé dans les différentes fonctions cognitives comportementales comme : aires sensorielles et de mémorisation, elle est le berceau de la cognition. C'est une structure essentielle à la formation, l'organisation et à la récupération de nouveaux souvenirs (**Graves et al., 2012**). Elle est parmi les parties les plus touché. En cas d'une neurotoxicité, les personnes ayant subi une ablation ou altération des deux hippocampes ne peuvent plus enregistrer de nouveaux souvenirs dans leur mémoire (**TONI, 2000; Soprano et al., 2009; Khene et al., 2017; Khene et al., 2018**).

Le principal type de cellules dans cette région est le neurone pyramidal exciteur, l'une des cellules les plus étudiées du cerveau des mammifères (**Graves et al., 2012**). Une étiologie multifactorielle est attribuée à de nombreuses pathologies neurodégénératives telles que la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer et la sclérose latérale amyotrophique, qui pourraient résulter de l'interaction entre facteurs environnementaux et prédispositions génétiques pouvant conduire à des troubles neuronale (**Etemadifar et al., 2012; Dardiotis et al., 2013; Marques et Outeiro, 2013; Baltazar et al, 2014**). De nombreux auteurs ont lié les pesticides, notamment le MET, à ces pathologies (**Bisbal et al., 2019**).

Une fonction neuronale appropriée nécessite un environnement extracellulaire hautement régulé. Le système nerveux central est extrêmement sensible à un large éventail de substances qui sont par ailleurs facilement métabolisées sans causer de dommages au système des organes périphériques (**Banerjee et al., 2007**). La barrière hémato-encéphalique est une structure spécialisée du système nerveux central qui limite la migration des cellules immunitaires et la diffusion de molécules solubles du compartiment

systemique dans le SNC. Les astrocytes et les microglies sont des cellules résidentes du SNC qui contribuent à la formation de la BHE (**Prat et al., 2011**). Un dénominateur commun à de nombreuses maladies neurologiques est la perte d'intégrité de la BHE et la présence d'infiltrats de cellules immunitaires dans le SNC (**Marc-André et al., 2016**). Plusieurs études ont montré que le développement et le fonctionnement de la BHE est extrêmement vulnérable à l'exposition de certains pesticides. Les effets persistants observés au cours du développement cérébral, même après l'arrêt du traitement, peuvent également entraîner certains dysfonctionnements neurologiques plus tard dans la vie (**Gupta et al., 1999**).

C'est ainsi que nous nous sommes intéressés à entreprendre ce travail qui a pour objectif d'élucider l'effet d'un insecticide, MET sur la morphologie des neurones au niveau de la zone CA1 de l'hippocampe et l'activité des astrocytes chez le rat Wistar.

Cette présente étude est subdivisée en deux parties principales, la première partie présente les données bibliographiques réparties dans un chapitre présentant des généralités sur le MET et leurs toxicités, ainsi que des généralités sur le système nerveux et ces régions tels que l'hippocampe.

La deuxième partie expérimentale, où des méthodes histologiques sont appliquées au niveau du cerveau a fin d'atteindre l'objectif de cette étude, en commençant par la coloration de Nissl en suite l'immunohistochimie.

Et enfin, nous discuterons l'ensemble de résultats obtenus, et on suggère quelques perspectives à ce travail de recherche.

Etude bibliographique

Chapitre I : étude bibliographique

1. Les pesticides

1.1 Définition

Le mot « **pesticide** » provient du latin « *pestis* », signifie animal, insecte, plante ou nuisible (virus, bactérie, champignon, ver, mollusque, insecte, rongeur, oiseau et mammifère) susceptibles d'être néfaste à l'homme et à son environnement et du suffixe « latin *-cida*, du verbe latin *caedo, caedere* » qui signifie tuer (**Cotonat, 1996 ; Couteux et Salaün, 2009**).

Ils sont des biocides qui regroupent toutes substances ou produits largement utilisés en agriculture et dans d'autres secteurs pour éliminer les ravageurs de cultures ou des produits agricoles, comme ils sont présents sous forme de médicaments vétérinaires, d'insecticides ménagers, de produits de jardinage ou encore utilisée pour protéger les espaces publics contre les animaux ou les microorganismes nuisibles (**ACTA, 2005 ; Testud et Grillet, 2007 ; Stachowski-Haberkorn, 2008**).

1.2 Classification des pesticides

La classification des matières actives dépend de plusieurs critères. Les pesticides peuvent être classés de différentes manières selon l'aspect sous lesquelles ils sont étudiés. Ils peuvent être regroupés selon leur structure chimique, leur persistance dans la nature, leur cible (insecticides, herbicides, fongicides, etc.), leur mode d'action, le domaine d'utilisation, leur toxicité (**Guler et al., 2010 ; Djefal, 2014**).

Le mécanisme d'action de certains pesticides n'est pas complètement élucidé (**Testud et Grillet, 2007**). La classification basée sur le mécanisme d'action représente un moindre d'intérêt puisque il est trouvé qu'il y a des pesticides de structure chimique différentes présentent le même mode d'action (organophosphorés et les carbamates) (**Mohajeri et al., 2011**). Donc il y a plusieurs critères de classification des pesticides :

1.2.1 Selon la structure chimique

On se basant sur la nature chimique de la substance active de pesticide il y a plus de 80 familles ou classes chimiques dont les plus connus sont: organochlorés, organophosphorés (OPs), organostaniques, carbamates, benzimidazoles, triazoles, pyréthriinoïdes de synthèse, néonicotinoïdes, pyrimidines et autres (Guler *et al.*, 2010 ; Djeffal, 2014).

1.2.2 Selon la persistance dans la nature

On distingue deux types :

- **Les pesticides persistants (conservatifs)** : Ce sont des pesticides organiques non biodégradables, qu'ils soient dissous dans l'eau ou fixes sur le matériel particulaire et ne s'éliminent pas (Belhaouchet, 2014). La production et l'utilisation de ces pesticides ne sont pas autorisées par plusieurs conventions internationales à cause de leur risques sur l'homme et l'environnement (Toumi, 2013 ; Utip *et al.*, 2013).
- **Les pesticides non persistants (non conservatifs)** : Ils sont biodégradables et ils disparaissent dans une petite période (OPs, pyréthriinoïdes, néonicotinoïdes et biopesticides) (Belhaouchet, 2014).

1.2.3 Selon le cible visée

D'après leur cible, les pesticides sont divisés en herbicides désignés pour tuer les mauvaises herbes ; en insecticides pour combattre les insectes ; en fongicides qui luttent contre les champignons ; en acaricides pour tuer les acariens ; en hélicides ou molluscicides pour éradiquer les nématocères ; en rodenticides ou raticides pour combattre les rongeurs vertébrés (Guler *et al.*, 2010 ; Toumi, 2013 ; Utip *et al.*, 2013).

1.3 Modes d'expositions de l'homme aux pesticides

Les pesticides sont utilisés, non seulement dans l'agriculture, mais aussi dans divers secteurs (industries, collectivités territoriales) ainsi qu'en usage domestique et vétérinaire. Ils ont aussi d'importantes applications en santé publique depuis les années 1950 : ils participent largement à la prévention de nombreuses maladies transmises par les insectes dans les pays tropicaux. Des problèmes de résidus dans les légumes, les fruits etc..., sont aussi mis en évidence (Testud et Grillet, 2007 ; Djeffal, 2014).

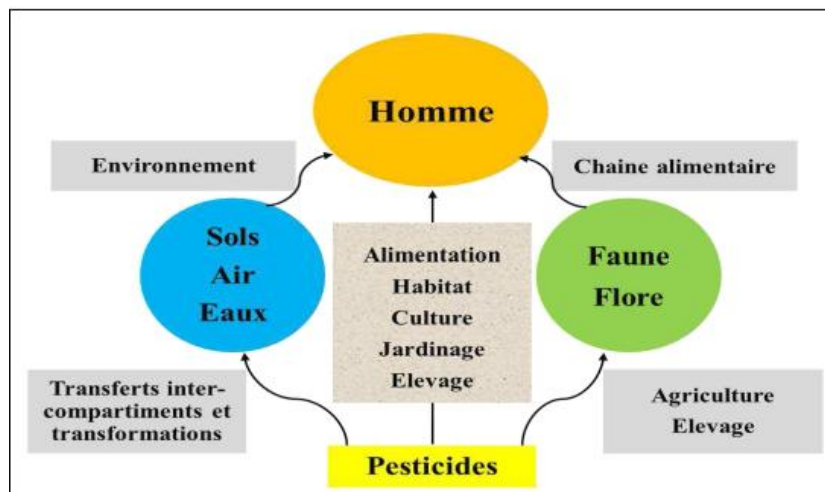


Figure 1. Modes d'expositions de l'homme aux pesticides (Gasmi, 2018)

L'homme peut être exposé aux pesticides via plusieurs voies d'exposition (fig.01). En effet, ces polluants pouvant pénétrer dans l'organisme par contact cutané, par ingestion des matrices alimentaires contaminées et encore par inhalation de l'air pollué. La grande variété de produits rend difficile l'évaluation des expositions chez les populations, qui est souvent à la suite d'expositions professionnelles (agriculteurs ou manipulateurs), ou d'empoisonnements accidentels ou intentionnels (population générale) (Utip *et al.*, 2013; Bourbia, 2013; WHO, 2019).

1.4 Les insecticides carbamates

Les carbamates agissent sur un très grand nombre d'insectes, pucerons et acariens, ainsi que sur les nématodes. Mis au point au cours des années 1950, ces produits sont actifs sur l'insecte soit par ingestion et absorption digestive, soit par contact et absorption au niveau de la cuticule, ou par inhalation. Ils ont un large spectre d'action, certains sont systémiques. Du point de vue chimique, il s'agit d'un dérivés de l'acide carbamique de formule générale $(\text{HOC}(\text{O}) \text{NH}_2)$ (fig.02). Ils partagent le mode d'action l'inhibition des cholinestérases et les utilisations des insecticides organophosphorés (OPs). Les produits techniques se présentent sous forme de cristaux ou de liquides huileux pratiquement non volatils, lipophiles, peu hydrosolubles mais solubles dans la majorité des solvants organiques à l'exception de pyrimicarbe, modérément volatil, et le formétanate, très

soluble dans l'eau (Ecobichon, 2001 ; Testud et Grillet, 2007 ; Agrawal et Sharma, 2010).

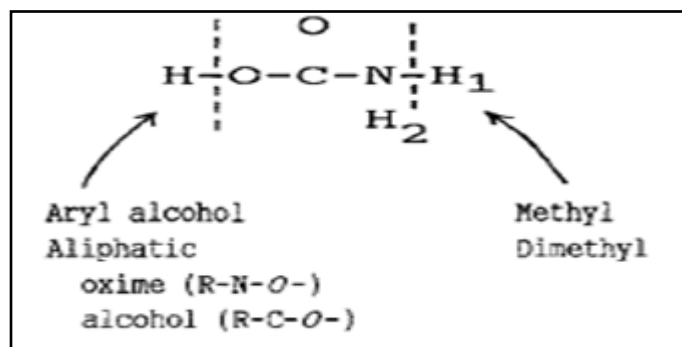


Figure 2. Structure de base de l'acide carbamique (Ecobichon, 2001)

* La substitution de H soit par un groupement alcool aryle, aliphatique, oxime ou alcool et de H1 soit par un groupement méthyle ou diméthyle donne les différents produits de la famille des insecticides carbamates (Djeffal, 2014).

1.5 Toxicocinétique des carbamates

La cinétique des carbamates est voisine de celle des organophosphorés. Ils sont absorbés par voie orale, ont une bonne pénétration percutanée, leur absorption respiratoire est négligeable compte tenu de la non-volatilité de la plupart des dérivés et de la taille des gouttelettes d'aérosols générées par les pulvérisateurs, arrêtées au niveau des voies aériennes supérieures. Ils sont rapidement métabolisés (-24h) et éliminés de façon complète. En milieu industriel de production et en milieu agricole, l'absorption systémique de pesticide se fait d'une pénétration cutanée, d'une déglutition des microparticules inhalées, et de fautes d'hygiène (port à la bouche des mains contaminées). Les carbamates exercent leur toxicité par l'inhibition de l'ACHé du tissu nerveux, à l'exception de thiodicarbe, qui nécessite une activation métabolique. Les symptômes sont principalement les mêmes que pour les agents anti cholinestérases. Il n'y a pas d'accumulation dans l'organisme, les métabolites sont éliminés dans les urines. La toxicité aiguë des carbamates varie selon les mammifères, de l'aldicarbe, très toxique (DL50 orale : 1 mg/kg), au carbaryl (DL50 : 850 mg/kg) et au fénoxy-carbe (DL50 : 17 g/kg) peu, voire très peu toxiques (Ecobichon, 2001; Testud et Grillet, 2007 ; Agrawal et Sharma, 2010; Reichel, 2010).

1.6 Le methomyl

1.6.1 Définition

Il est l'un des pesticides le plus fréquemment utilisés dans l'agriculture. C'est un insecticide de la famille chimique des carbamates et il a un large spectre d'application. En 1966 il a été introduit et lancé sur le marché par Du Pont avec des noms de marque comme Lannate®, Nudrin®, Metomex® et Terbate®... (Sinhaseni et al., 1995 ; IPCS, 1996 ; Mansour et al., 2009 ; Van Scoy et al., 2013). Il est présenté sous forme de poudre hydrosoluble ou liquide miscible à l'eau et à diluer pour le traitement des cultures au sol ou en pulvérisations aériennes (Kidd et James, 1991 ; IPCS, 1996).

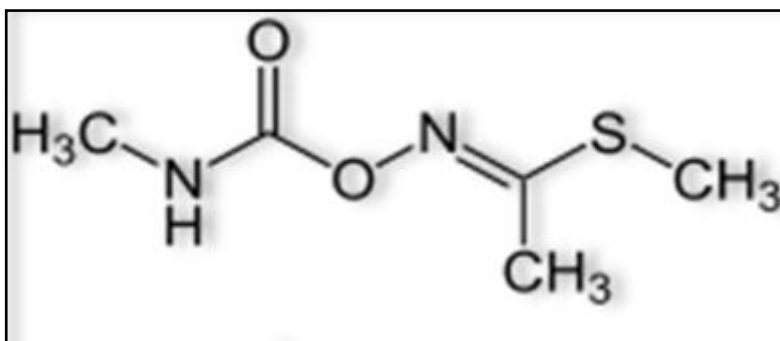


Figure 3. Structure chimique du méthomyl (Djeffal, 2014)

1.6.2 Identité et propriétés physicochimiques du méthomyl

1.6.2.1 Identité

- Nom commun : Methomyl.
- Classe chimique : Carbamates.
- Fonction : Insecticide.
- Nom chimique selon IUPAC : S-méthyle N-[(méthylcarbamoyl)oxy] thioacétimide.
- Nom chimique selon CAS : Méthyle N-[[[(méthyl-amino) carbonyl] oxy] éthanimidothioate.
- No CAS : 16752-77-5.
- Formule Moléculaire : C₅H₁₀N₂O₂S (IPCS, 1996 ; Clive, 2001).

1.6.2.2 Propriétés physicochimiques

Tab.1 : Propriétés physicochimiques du MET (IPCS, 1996 ; Tomlin, 2000 ; Van Scoy et al., 2013 ; Djefal, 2014).

<i>Propriétés</i>	<i>Résultats</i>
Masse moléculaire relative	162.23g/mol
État physique	Solide cristallin
Couleur	B l a n c
Odeur	légèrement sulfureuse
Densité	1.2946 (à 24°C)
Pression de vapeur	0. 7 2 m P a ; 5×10^{-5} mm Hg (à 25°C)
Point de fusion	78 à 79°C
Constante de la loi d'Henry	2.1×10^{-11} atm.m ³ /mole
Stabilité	Stable en forme solide et dans les solutions aqueuses à pH 7.0 ou moins. Se décompose rapidement dans les solutions alcalines et dans les sols moites.
Solubilité	Solvant (g/kg) à 25°C : Eau 58 Méthanol 1000 Acétone 730 Ethanol 420

1.6.3 Effets toxicologiques du methomyl

Le MET est un résidu plus communément trouvé dans divers produits alimentaires comme contaminant (Makrides et al., 2005). C'est un polluant causant des soucis environnementaux en raison de son hydro-solubilité élevée. Il a été classifié comme un composé très toxique et fortement dangereux par l'OMS (l'organisation mondiale de la santé) (OMS, 2005).

a- Toxicité aigue

Le MET est très toxique lors d'exposition par les voies orale et oculaire. Il est modérément toxique par inhalation. Il est sévèrement irritant pour les yeux mais peu ou pas pour la peau. Il n'est pas un sensibilisant cutané. Aux doses mortelles les rats sont morts

Chapitre I : étude bibliographique

dans des heures, les signes d'intoxication aiguë sont ceux que l'on peut attendre d'un inhibiteur de l'AChE et consistent, en une hyper-salivation, une larmimation, des tremblements, un myosis, une diarrhée et prostration. Les survivants ont commencé à récupérer dans plusieurs heures et avaient entièrement récupéré dans des jours (Djefal, 2014).

Tab.2 : Valeurs de la toxicité aiguë du methomyl chez les mammifères

Mode d'exposition	Espèce	Résultats	Références
Oral	Rat	DL50 : 12-48 mg/kg DL50 : 20 mg/kg	Ecobichon,2001 Shalaby et al, 2010
Oral	Souris	DL50 : 10 mg/kg	Baron, 1991
Oral	Cobaye	DL50 : 15 mg/kg	Baron, 1991
Inhalation	Rat	4h DL50 : 0.26 mg/l	IPCS, 1996
Dermale	Lapin (peau intacte)	DL50 : > 2000 mg/kg	IPCS, 1996
Dermale	Rat (peau abrasée)	DL50 : 1000 mg/kg	IPCS, 1996

b-Toxicité chronique

Dans le cas du MET, L'exposition prolongée ou répétée peut causer des symptômes semblables aux effets aigus du pesticide, chacune ayant pour résultat l'inhibition temporaire de l'acétylcholinestérase. L'exposition répétée à des faibles doses du MET peut causer une inhibition insoupçonnée de l'AChE, ayant pour résultat comme des symptômes; la faiblesse, le manque d'appétit, et les maux de muscle (Tsai et al., 2003). La reproduction et le développement n'ont pas été affectés lors des études effectuées sur les animaux de laboratoire. Il n'était pas cancérigène chez les animaux de laboratoire et il ne perturbe pas la fonction endocrinienne. Par contre, certains test de génotoxicité se sont révélés positifs or on ne peut conclure à l'absence de risque (SAGE, 2019). L'inhibition de l'AChE peut persister pendant deux à six semaines. Cette condition est réversible si l'exposition est discontinuée (Tsai et al., 2003).

1.6.4 Mode d'action

Comme toutes les autres insecticides carbamates, le MET est un inhibiteur de l'AChE, contenue dans les jonctions synaptiques entre les neurones (Van Scoy et al., 2013). Il travail comme « insecticides de contacte », il tue les insectes par contacte directe ou

comme « insecticide systémique » en raison de ses possibilités de causer l’empoisonnement systémique, après qu’il soit absorbé et transporté dans l’insecte cible qui se nourrit de la plante traitée (IPCS, 1996 ; Baron, 1991).

1.6.5 Utilisation et efficacité

Il est utilisé partout dans le monde sur toutes sortes de cultures. Il sert notamment à protéger les fruits, les vignes, le houblon, les légumes, les céréales, le soja, le coton et les plantes ornementales. A l’intérieur des bâtiments, on l’utilise aussi pour détruire les mouches dans les animaleries et les laiteries (IPCS, 1996).

Il a un large spectre d’action sur plus de 100 espèces d’insectes nuisibles comme un ovicide, larvicide et adulticide, il a en outre une action nématocide et acaricide intéressante (IPCS, 1996 ; Clive, 2001 ; Tamimi et al., 2008).

1.6.6 Sources d’exposition environnementale et humaine

Le MET est un polluant majeur causant des soucis environnementaux en raison de son hydro-solubilité élevée et son utilisation répandue contre plusieurs nuisibles. Il peut facilement causer la contamination des différentes ressources d’eau. En outre, de diverses quantités de résidu de MET ont été détectées dans les eaux de surface et souterraines à travers l’Europe et en Amérique non seulement pendant l’application de l’insecticide mais également après une longue période d’utilisation (Tamimi et al., 2008). Dans l’environnement naturel, la décomposition abiotique du MET par hydrolyse ou photolyse est lente ou nulle (Van Scoy et al., 2013). Il peut y avoir exposition humaine essentiellement au cours de la préparation et de l’épandage de ces produits ou par suite de l’ingestion de résidus subsistant sur des cultures vivrières (IPCS, 1996).

2. Système nerveux

Le système nerveux (SN) est l’ensemble des systèmes qui mettent le corps dans un état d’équilibre. Il détecte les différentes stimulations (externe et interne) et réagit rapidement avec une très haute coordination. Il est subdivisé en deux systèmes : centrale (SNC) et périphérique (SNP) (Bear et al., 2016).

2.1. Système nerveux central (SNC)

Le SNC est un organe sensible et un système très complexe et important. Il est composé par l’encéphale qui regroupe le cerveau, le cervelet et le tronc cérébral, et par la moelle

Chapitre I : étude bibliographique

épineière située dans le canal rachidien. Le cerveau est la partie la plus grosse du système nerveux (Bear et al., 2016). Son rôle est de recevoir, enregistrer, interpréter les signaux qui parviennent de la périphérie, et organiser la réponse à envoyer, donc il régule et contrôle l'ensemble des activités du corps par l'intermédiaire de messages nerveux (Bensoussan, 2009).

2.2. Système nerveux périphérique (SNP)

Le SNP est composé par le système nerveux somatique (SNS) et autonome (SNA). Son rôle est de conduire jusqu'au système nerveux central les informations issues des récepteurs périphériques de la sensibilité ou de la douleur, et de transmettre les ordres moteurs émis par les centres nerveux (Bensoussan, 2009).

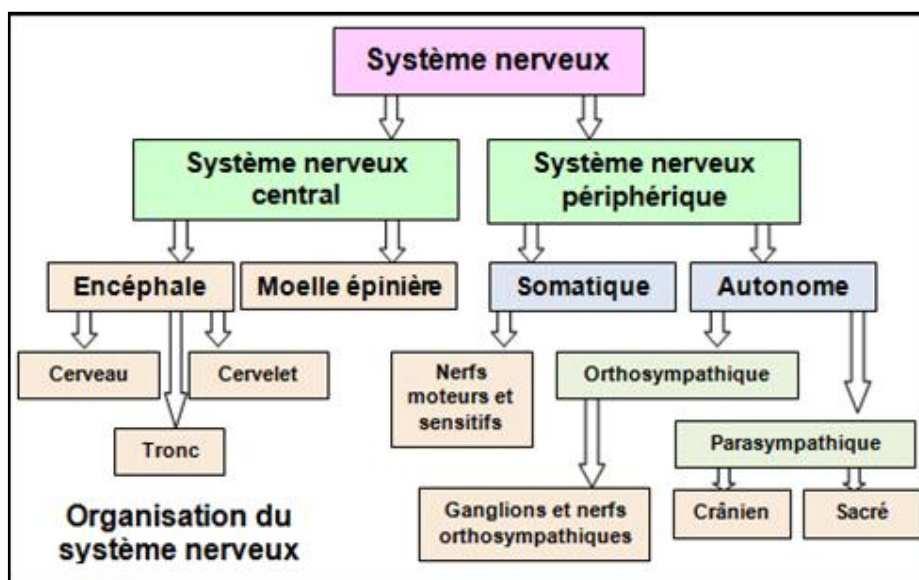


Figure 4. Organisation fonctionnelle du système nerveux (la douleur, 2017)

2.3 Moelle épinière

La moelle épinière est une des parties principales du système nerveux central. Elle est le centre des nerfs situés dans la colonne vertébrale et assurent la transmission des informations (influx nerveux) entre le cerveau et les différentes régions du corps ainsi que l'activité réflexe (Doctissimo santé, 2018).

2.4 Cerveau

Le cerveau c'est le chef d'orchestre du corps humain, et l'étage le plus élevé dans l'hierarchie fonctionnelle du SNC. Il constitue le centre de contrôle du corps humain, il est spécialement développé chez l'homme, assure la régulation de toutes les fonctions vitales, les fonctions supérieures (fonctions cognitives, sens, réponses nerveuses) et végétatives. Il est situé dans la boîte crânienne et divisé en deux hémisphères : l'hémisphère droit et l'hémisphère gauche. Ces derniers communiquent entre eux par un faisceau de fibres nerveuses appelé corps calleux (**Cambier, 2008**). Il est composé d'une myriade de cellules nerveuses, appelées neurones, qui forment un réseau de connexions extrêmement efficace.

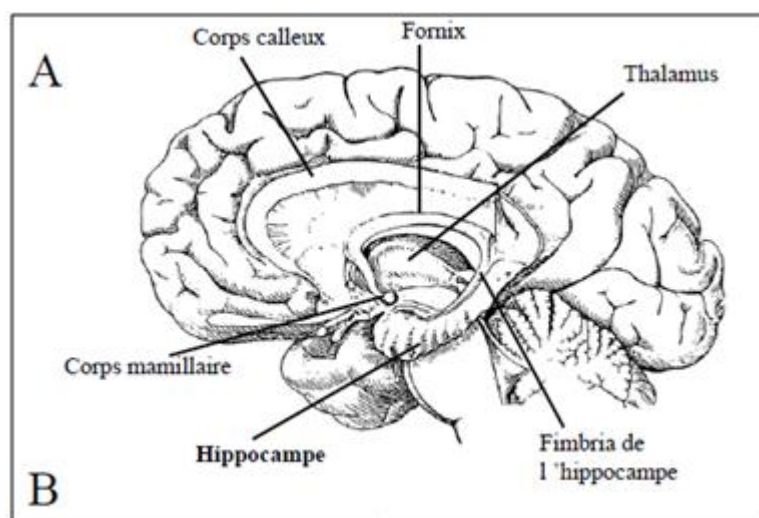


Figure 5. L'anatomie du cerveau (Nicolas, 2000)

Les hémisphères cérébraux forment les parties les plus volumineuses du cerveau. Ils sont deux : un hémisphère droit et un hémisphère gauche, ils contrôlent l'ensemble de nos fonctions mentales supérieures. Chaque hémisphère est lui-même partagé en quatre zones appelées lobes, qui sont les suivantes :

- **Les lobes frontaux** : parole et langage, raisonnement, prise de décision, personnalité, jugement, mouvements.
- **Les lobes pariétaux** : lecture.
- **Les lobes occipitaux** : vision.
- **Les lobes temporaux** : langage, mémoire, émotions (**Institut national du cancer, 2017**).

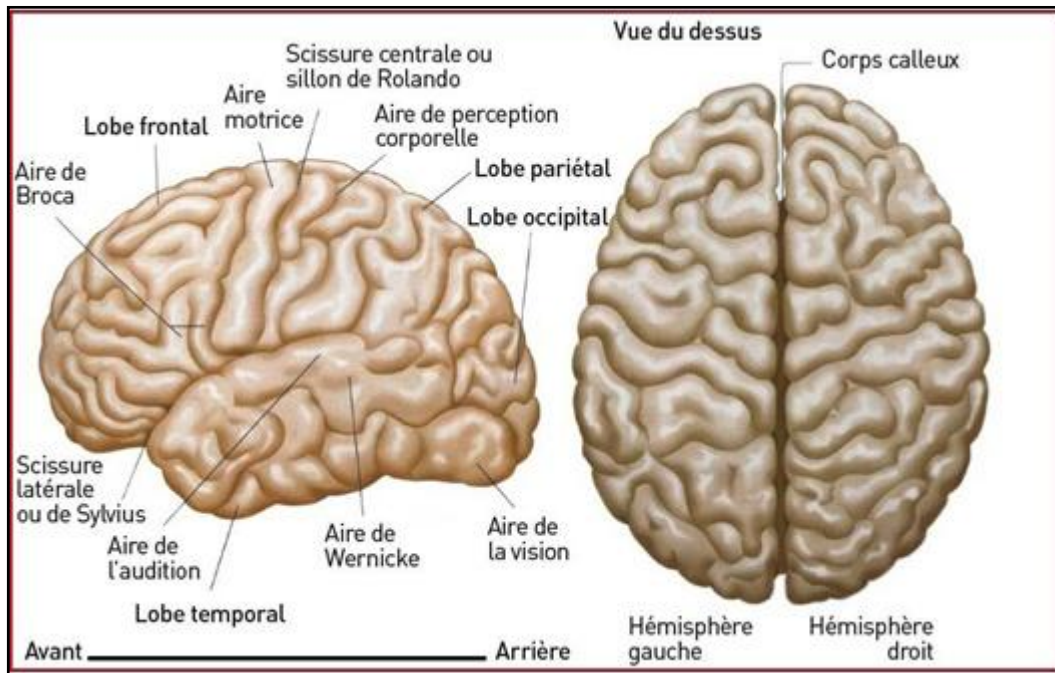


Figure 6. Structure des hémisphères cérébraux

2.4.1 Hippocampe

L'hippocampe est un petit organe situé dans le lobe temporal médian du cerveau, qui fait partie du système limbique (Amaral and Witter, 1995). Chez les mammifères, la forme tridimensionnelle de l'hippocampe est relativement complexe, elle est présentée de manière symétrique dans les deux hémisphères cérébraux. Elle est divisée en trois parties: CA1, CA2 et CA3 en fonction de la taille et de la densité des cellules pyramidales qui les composent. Les cellules pyramidales constituent environ 90% des neurones de l'hippocampe propre. Elle joue un rôle central dans la mémoire, la navigation spatiale et les processus d'apprentissage, en plus particulièrement dans deux types de mémoire : la mémoire déclarative (mémoire sémantique, des faits et mémoire autobiographique des événements) et la mémoire spatiale (mémoire des lieux et du contexte) (Guzowski et al., 2004).

2.5. Neurone

Le neurone est un type cellulaire de système nerveux, hautement spécialisé dans la communication et le traitement d'informations (fig.07) (William, 1981; Pascal, 2010). Il est composé d'un péricaryon (ou corps cellulaire, soma) lui assurant la synthèse de ses constituants (protéines, enzymes), de très nombreuses ramifications de type dendritiques,

Chapitre I : étude bibliographique

et d'un axone entouré par des cellules de Schwann qui confèrent une gaine de myéline protectrice tout le long de l'axone. Son rôle principal est la transmission du signal nerveux, grâce à les cellules gliales qui se chargent de leur protéger, de leur nourrir et d'optimiser leur fonctionnement (**Christensen et al., 2013**).

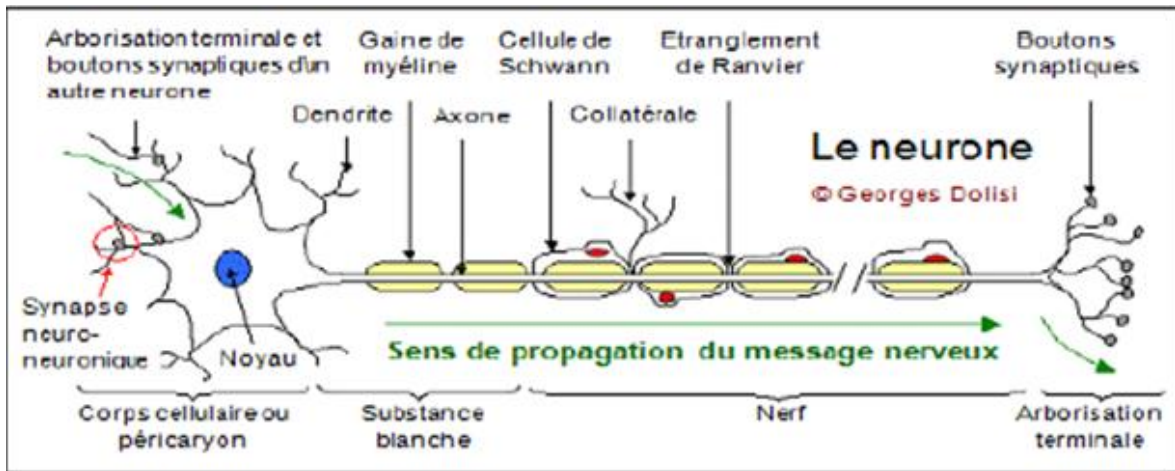


Figure 7. Structure d'un neurone (Jean-François et al., 2005)

2.5.1 Propriétés des neurones:

Les neurones ont deux propriétés physiologiques:

- l'excitabilité, c'est-à-dire la capacité de répondre aux stimulations et de convertir celles-ci en impulsions nerveuses.
- la conductivité, c'est-à-dire la capacité de transmettre les impulsions.

2.5.2 Types des neurones

Parmi les types de neurones, on peut citer

- Le neurone pyramidal.
- Le neurone bipolaire.
- Le neurone sensitif .
- Le motoneurone, ou neurone moteur (**Marie-Céline, 2019**).

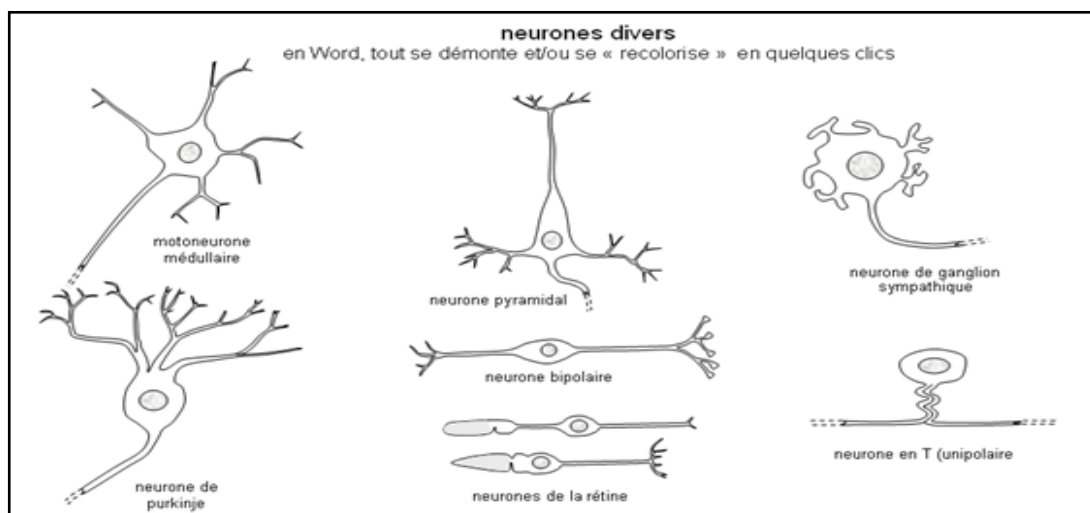


Figure 8. Les différents types des neurones

2.5.2.1 Les neurones pyramidaux

Les neurones pyramidaux forment une catégorie de neurones. Ils tirent leur nom de la forme de leur péricaryon, rappelant celle d'une pyramide. Les péricaryon des cellules pyramidales sont situés dans le cerveau, plus précisément au niveau de l'hippocampe et du néocortex. La forme des neurones pyramidaux varie un peu en fonction de leur localisation dans le cerveau. Il existe plusieurs sortes de neurones pyramidaux :

- les neurones pyramidaux de l'hippocampe : ces neurones sont en contact avec des cellules de l'hippocampe et du cortex.
- les neurones pyramidaux du néocortex : ils peuvent se trouver dans les couches III ou V (Marie -Céline, 2019).

2.6. Les cellules gliales

Le terme de « glie » a été introduit en 1858 par Rudolf Ludwing Karl Virchow, pour qui ces cellules étaient un tissu conjonctif dépourvu d'éléments cellulaires (Virchow, 1858). Les neurones ne constituent pas tout le tissu cérébral, elles représentent la majeure population cellulaire du névraxe (environ 90% des cellules sont des cellules gliales, contre seulement 10% de neurones chez l'homme). Leur rôle est très important dans la pathologie de système nerveux (Elodie Barat., 2012). L'ensemble de ces cellules participent à la protection et la régulation de la fonction neuronale. Les cellules gliales du SNC sont classées en différents types dont les principaux :

Les astrocytes, les oligodendrocytes, les cellules NG2 et les cellules micro-gliales (**Block et Hong, 2005**).



Figure 9. Schéma représentatif des différents types cellulaires du SNC.

(Code couleur : jaune = neurone, mauve = astrocytes vert = oligodendrocytes, bleu = microglies, rose = épendymocytes, rouge = vaisseaux sanguins). Illustration réalisée grâce à **Servier Medi**.

2.6.1 Les astrocytes

Les astrocytes sont les cellules majoritaires du système nerveux central. Ils ont nommé par Michael Von Lenhossek, en raison de leur morphologie étoilée. Ils sont composé d'un corps cellulaire arrondi et de fines ramifications qui s'étendent sur 30 à 60 μm chez les rongeurs, et jusqu'à 200 μm chez l'homme (**Oberheim et al., 2006**). Le noyau des astrocytes est plus clair que celui des autres cellules gliales et le cytoplasme contient de nombreux granules de glycogène et de filaments intermédiaires, composés de protéine acide fibrillaire gliale (GFAP), que l'on ne trouve que dans les astrocytes. Les extensions membranaires sont en contact avec les vaisseaux sanguins et les synapses. Le prolongement d'un seul astrocyte est capable de contacter plusieurs synapses (l'hippocampe, plus de 140000 synapses) (**Bushong et al., 2002**).

2.6.2 Classification des astrocytes

On peut distinguer essentiellement trois classes principales d'astrocytes:

- **Les astrocytes protoplasmiques:** Ils se trouvent dans la matière grise et ils ont des processus cytoplasmiques très variables.
- **Les astrocytes fibreux:** dans leurs extensions, il y a une grande quantité de fibrilles (gliofibrilles). Ils se trouvent surtout dans la substance blanche. Ils se distinguent facilement par des extensions plus longues et moins ramifiées que les astrocytes protoplasmiques.
- **Les astrocytes radiaux:** Ils expriment GFAP, ils sont également des récupérateurs et des transporteurs de glutamate (**Aqua portail, 2018**).

2.6.3 Rôle des astrocytes

Les astrocytes jouent des rôles fonctionnels très importants. Elle est centrée sur le support et la protection des neurones. Ces cellules participent au maintien de la barrière hémato-encéphalique, régulent le flux sanguine et maintiennent le pH du SNC. De part leur forme et leur situation, étant à la fois proche des neurones et des cellules endothéliales, les astrocytes pourraient être un moyen de communication entre ces deux types cellulaires (**Kim et al., 2006**). Elles ont fournies des substrats énergétiques pour les neurones, via la dégradation du glycogène en lactate, lors d'un manque de glucose (**Brown et Ransom, 2007**). Aussi, elles participent à la neurotransmission, modulation de la transmission synaptique et à la détoxification du milieu extracellulaire notamment par capture du glutamate, et élimination des déchets neuronaux. Les astrocytes jouent également un rôle dans la défense immunitaire, puisqu'ils peuvent reconnaître le non-soi, la réparation et la cicatrisation du cerveau après une lésion (**Farina et al., 2007**).

2.7. La barrière hémato-encéphalique (BHE)

Le terme de barrière hémato-encéphalique a été introduit par Stern et Gaultier en 1921. C'est un filtre extrêmement sélectif, elle permet la régulation de l'équilibre ionique, facilite le transport des nutriments et limite l'entrée de molécules potentiellement dangereuses. Leur rôle est protégée le cerveau des toxines et agents circulant dans le sang, par sa faible perméabilité. La BHE est composée principalement des cellules endothéliales, des péricytes, de pieds des prolongements astrocytaires, de la lame basale (figure 10) (**Ballabh et al., 2004**).

- **Les cellules endothéliales**

Les cellules endothéliales de la BHE diffèrent de celles du reste de l'organisme par l'existence de jonctions serrées ayant une résistance électrique très élevée qui empêche la diffusion des molécules, même de petite taille (ex.: ions). La lame basale une membrane de 30 à 40nm d'épaisseur. Elle est continue à la membrane plasmique des pieds des prolongements astrocytaires. Les astrocytes gainent le capillaire cérébral (**Hawkins et Davis, 2005**).

- **Les péricytes**

Les péricytes ont un rôle proche des cellules astrocytaires. Ils apporteraient un soutien structurel aux cellules endothéliales cérébrales (**Ballabh et al., 2004**) et pourraient réguler le flux sanguin des capillaires. Ils sont capables d'induire des propriétés de la BHE sur des cellules endothéliales cérébrales en culture, qui partagent avec les cellules endothéliales la membrane basale.

- **Les jonctions serrées**

Au niveau de la BHE, il existe plusieurs types de jonctions, se formant entre deux cellules endothéliales adjacentes (figure 10). On trouve les jonctions serrées JS. Elles permettent la communication intercellulaire. En revanche, les JS ont pour rôle de limiter la perméabilité de l'endothélium (**Hawkins et Davis, 2005**).

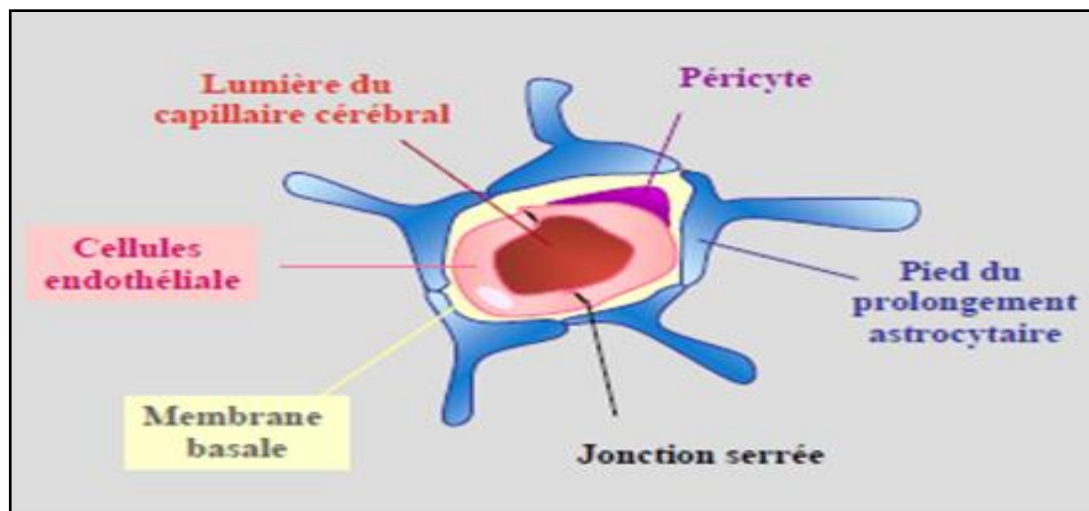


Figure 10. Coupe transversale d'un vaisseau cérébral (Hawkins et Davis, 2005; Zlokovic et Apuzzo, 1998)

La pénétration des molécules dans le SNC peut se faire au niveau de la BHE par un passage transcellulaire, c'est-à-dire au travers des cellules, ou para-cellulaire, soit entre les cellules. Le passage transcellulaire correspond à différents mécanismes comme la diffusion

Chapitre I : étude bibliographique

passive de composés lyphiliques, l'utilisation de transporteurs spécialisés ou encore la transcytose. Le passage para cellulaire utilise le gradient de concentrations des ions et solutés. Au niveau de la BHE, le passage para cellulaire est quasiment complètement obstrué par la présence de jonctions serrées entre les cellules endothéliales, en apical des membranes. Ces jonctions sont donc un élément déterminant de la bonne 'étanchéité' de la BHE et ainsi de l'environnement adéquate pour le fonctionnement du SNC (**Petty et Lo, 2002**).

Matériel
et
méthodes

Chapitre II : Matériel et méthodes

1. Matériel biologique

Notre étude a été réalisée sur un nombre de 12 rats males Albino de la souche Wistar distribué sur deux lots d'une façon au hasard, provenant de l'institut pasteur de Koumba d'Alger pesant environ 250-300g. Ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs. Largement utilisés dans divers domaines de la recherche expérimentale. Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation de 07 jours, aux conditions de l'animalerie, à une température voisine de 25°C et une photopériode 12/12h.

Les rats sont élevés dans des cages qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées et la litière changée tous les 02 jours jusqu'à la fin de l'expérimentation. Ils ont été nourris avec du pain sèche.

1.1. Traitement des rats

Les rats ont été repartis en deux groupes, il s'agit de :

- **Groupe 1** : 06 rats control ont reçu l'eau distillée par voie orale (gavage).
- **Groupe 2** : 06 rats traités par le méthomyl dissout dans l'eau distillée, administré par voie orale (gavage) à raison de 1/16 de la DL50 de pesticide à 9h-10 :30 pendant 28 jours.

1.2. Sacrifice et extraction du cerveau

Après les 28 jours de traitement les deux groupes de rats sont sacrifiés (par décapitation). Les cerveaux ont été rapidement prélevés, rincés avec l'eau distillée et conservés totalement dans le formol 10% pour une étude histologique.

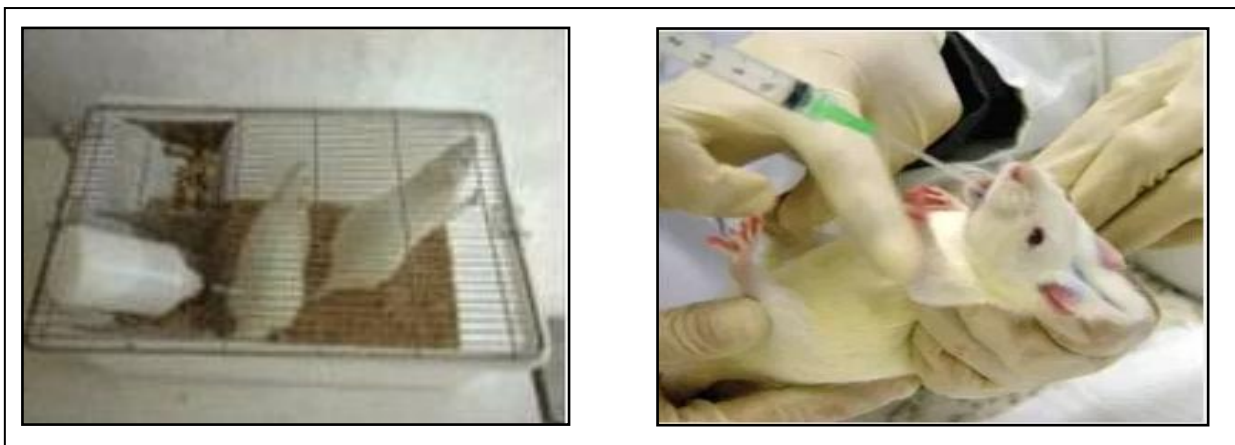
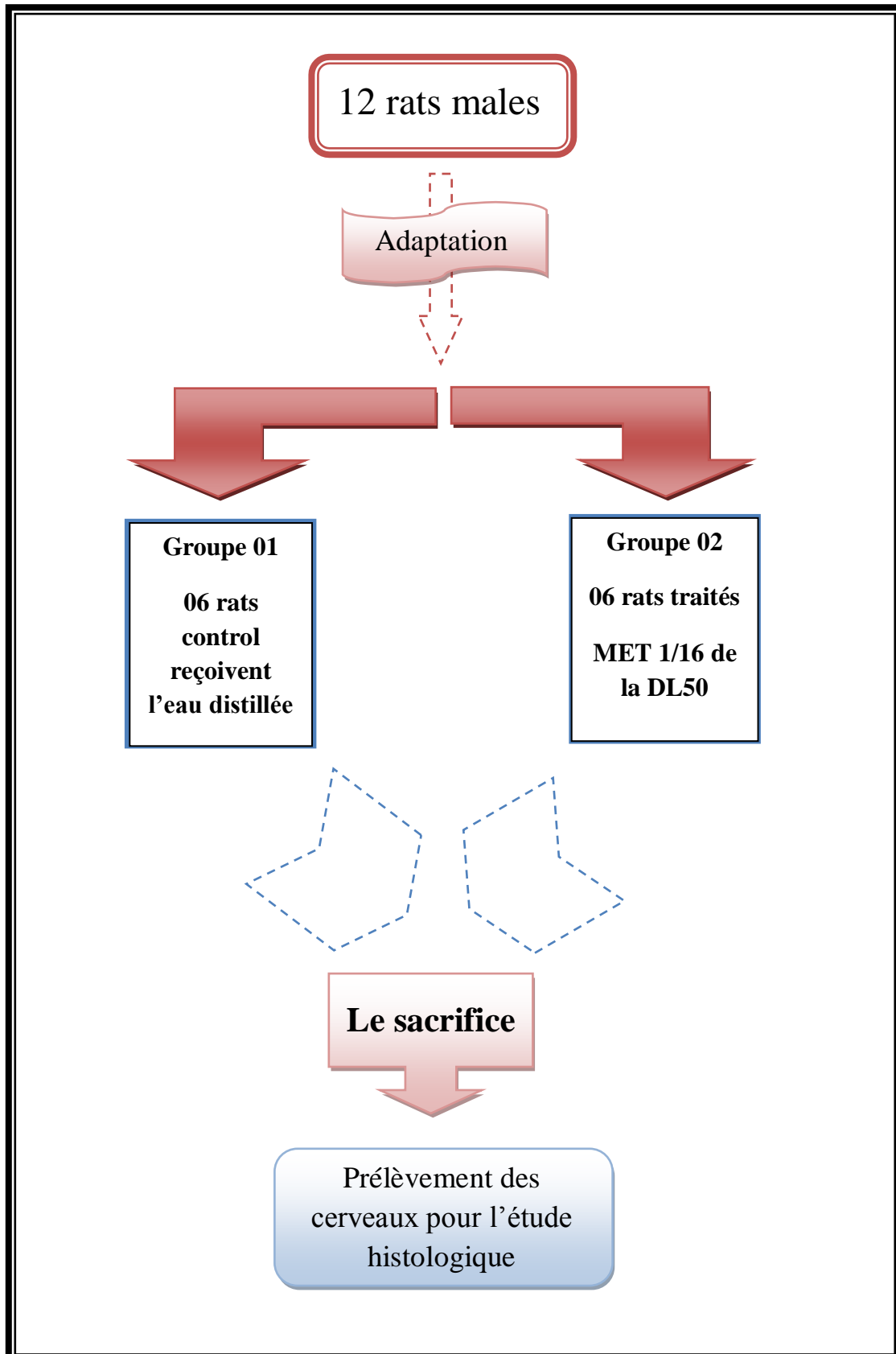


Figure11. A : Rats Wistar ; B : Administration de traitement par gavage.

Le diagramme suivant récapitule les différentes étapes du protocole expérimental utilisé.



2. Méthodes

Dans le but d'examiner la disposition cellulaire, structurale et moléculaire des tissus et organes, les chercheurs utilisent la méthode de coloration histologique. Dans cette technique, on utilise des produits chimiques fixatifs pour préserver le tissu d'intérêt et ensuite sectionné, ou découpé en tranches très fines. Les techniques histologiques sont fréquemment appliquées pour visualiser et étudier les tissus du système nerveux (**JoVE, 2019**).

Pour notre étude Nous avons utilisés deux méthodes:

2.1. Coloration de Nissl

La coloration de Nissl est également appelée coloration au crésyl violet car elle colore les neurones qui contiennent la substance de Nissl. La substance de Nissl est une organisation en amas du réticulum endoplasmique rugueux. Le crésyl violet colore le noyau et les corps de Nissl, tout particulièrement les ribosomes du réticulum endoplasmique granulaire. Une coloration au crésyl violet a 0.5% est réalisée systématiquement sur une série de coupes suivant le protocole de **Viapiano Lab, (2007) et Amit Ranjan et al., (2014)**.

2.1.1. Applications

Cette coloration est notamment utilisée en neurosciences pour compter les neurones et évaluer la perte neuronale dans des cas pathologiques (**Bolam JP, 1992 ; Histalim, 2015**).

2.1.2. Mode opératoire

Solution de violet de crésyl : 0,1 g d'acétate de violet de crésyl+100 ml de d'eau distillé + 250 ul d'acide acétique glacial.

*Agiter pendant la nuit à la température ambiante et filtrer avant d'utiliser. Dure 6 mois de conservation à la température ambiante dans le noir.

Tab.3. Le mode opératoire de coloration de Nissl (Viapiano Lab, 2007; Amit Ranjan et al., 2014).

	Solution/appareil	Bains	Température	Temps
Fixation	PFA 10% (para formaldéhyde)	-	-	-
Rinçage	Eau de robinet	-	-	2h
Déshydratation	Ethanol 50%	1	-	10min
	70%	1	-	10min
	90%	1	-	10min
	100%	1	-	10min
Eclaircissement	Toluène 100%	1	-	10min
Imprégnation	Paraffine	1	57°C étuve	2h
Confection de blocks	Moule inox	-	-	3h
	plaque chauffante	-	-	
Coupe	Microtome 0.5µm	-	-	-
Etalement	plaque chauffante	-	37°C	-
Déparaffinage	Toluène	-	37°C	10min
Hydratation	Ethanol 100%	1	-	10min
	90%	1	-	10min
	70%	1	-	10min
	50%	1	-	10min
Coloration	violet de crésyl à 0,1%	1	-	20min
Rinçage	Eau distillé	2	-	5min chacune
Déshydratation	Ethanol 50%	1	-	10 min
	70%	1	-	10min
	90%	1	-	10min

	100%	1	-	10min
Éclaircissement	Toluène	1	-	10min
Séchage	Etuve	-	37°C	1à2h
Montage	Colle+lamelle	-	-	-
Observation et interprétation	Microscope optique	-	-	-

2.2.Immunohistochimie (IHC)

L'immunohistochimie (IHC) est une méthode d'étude morphologique utilisée en histo- et cytopathologie depuis plus de vingt ans. Elle met en évidence certaines protéines cellulaires, qu'elles soient cytoplasmiques, membranaires ou nucléaires, spécifiques pour un type ou une fonction cellulaire, à l'aide d'une réaction spécifique antigène – anticorps, le complexe formé étant rendu visible, donc localisable, par un marqueur coloré. L'immunohistochimie permet au pathologiste de préciser son diagnostic au maximum, elle donne au clinicien la possibilité de choisir le traitement optimal pour son patient (**Genton, 2006**).

2.2.1. Mode opératoire

Réactifs :

- Un (ou plusieurs) anticorps primaire couplé(s) ou non et spécifiques de votre(s) molécule(s) d'intérêt.
- Kit de révélation.
- Chromogène.

Tampons :

- Xylène
- Bains d'alcool à 70%, 80% et 95%
- Péroxyde d'hydrogène (H₂O₂)
- Tris EDTA, Tris HCl
- Tween-20

Tab.4. Le mode opératoire de l'immunohistochimie (Bolam JP. 1992).

	Solutions/appareil	Bains	Température	temps
Déparaffinage	xylène	3	-	5 min
Lavage	Alcool benzylique			
	96%	-	-	5 min
	80%	-	-	5 min
	70%	-	-	5 min
Rinçage	Eau distillée	-	-	-
incubant de tissu	peroxyde d'hydrogène (H2O2) 3%	1	-	10 min.
Rinçage	Eau distillée	-	-	-
Démasquage d'antigène	tampon Tris-EDTA buffer (pH 9.0, 0.05%) +Tween- 20	-	-	-
Incubation	Bain-marie	-	95%	30min
Refroidissement	Tampon Tris-EDTA buffer (pH 9.0)	-	température ambiante	15 min.
Rinçage	Eau distillée	-	-	-
Lavage	tampon Tris-Hcl 0,05 M (pH 7,6) avec 0,2 % de Tween-20 (Tampon A)	1	-	5 min
Application d'anticorps (Ac) primaire dilué	Ac dilué dans : Tampon Tris-Hcl 0,05 M (pH 7,6) avec 0,05 % de Tween- 20 selon	1	chambre humide	1 h

	une dilution comprise entre 1/100 et 1/200			
Lavage	Tampon A	2	-	5 min
Application d'anticorps 2aire	le protocole dépend du fournisseur	-	-	-
Lavage	Tampon A	2	-	5 min
Ajouter le chromogène (DAB)	DAB	-	-	10 min
Rinçage	Eau distillée	-	-	-
Coloration	l'hématoxyline	-	-	5 min
Lavage	Eau distillée	-	-	10 min
Déshydratation De tissu.	Alcool benzylique à 96%	2	-	5 min
Lavage	xylène	2	-	2 min
Montage	Colle+lamelle	-	-	-
Observation et interprétation	Microscope optique	-	-	-

3. Analyse de données

3.1. Analyse histo-morphométrique

- Histomorphométrie est réalisée avec le logiciel d'analyse d'image (Image J).

3.2. Analyse statistique

- Les résultats obtenus ont été représentés sous forme de moyennes avec leur Standard Error of the Mean (Moy \pm SEM). Ces résultats ont été représentés sous forme des histogrammes.

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel office Excel 2007. La signification de différence entre le lot témoin et les lots traités est vérifiée en utilisant le test de la variable « t » de *Student*.

Nous avons effectués une comparaison, le groupe traité au groupe témoins :

- *: Différence significative ($p \leq 0.05$) ;
- ** : Différence hautement significative ($p \leq 0.01$) ;
- *** : Différence très hautement significative ($p \leq 0.001$).

Résultats et discussion

Chapitre III : Résultats et Discussion

1. Résultats

1.1. L'effet de methomyl sur la zone CA1 de l'hippocampe après 28 jours de traitement

1.1.1. Epaisseur de la couche cellulaire pyramidale CA1

L'observation des coupes histologiques du cerveau total des rats traités par le Methomyl (B), révèle une modification morphologique de la zone CA1 de l'hippocampe bien visible par rapport au groupe témoin (A), se traduisant par le rétrécissement des cellules cérébrales et des lésions vasculaires. Ces altérations de la structure affectent la fonction des neurones et peuvent contribuer à un dysfonctionnement de cet organe.

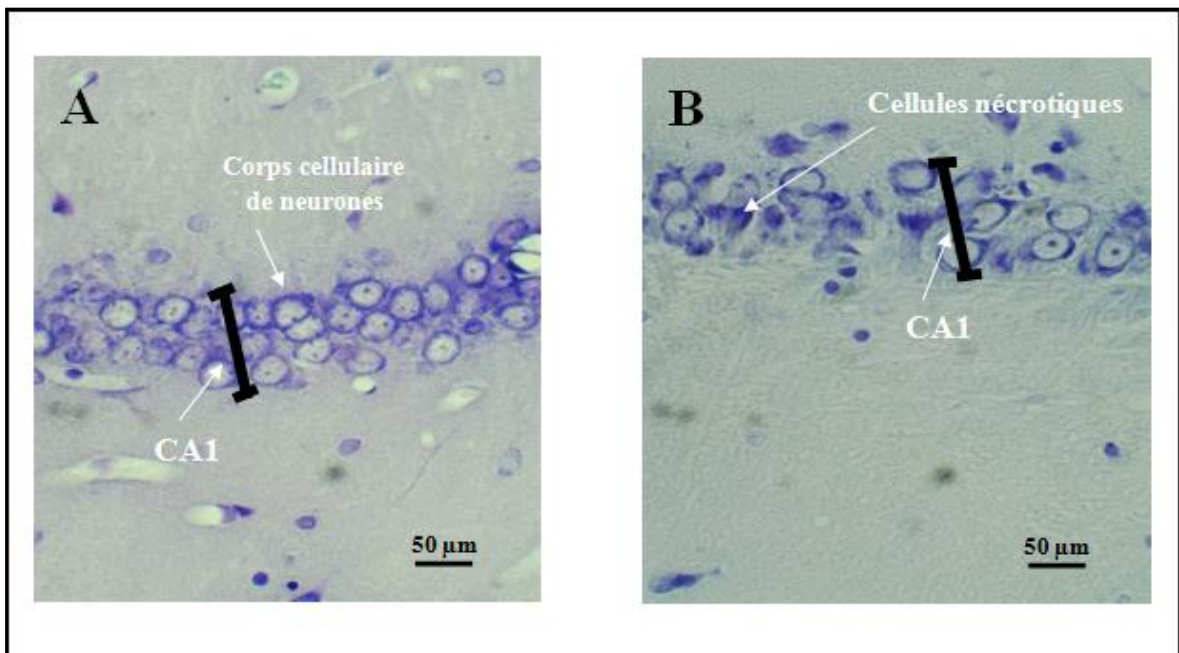


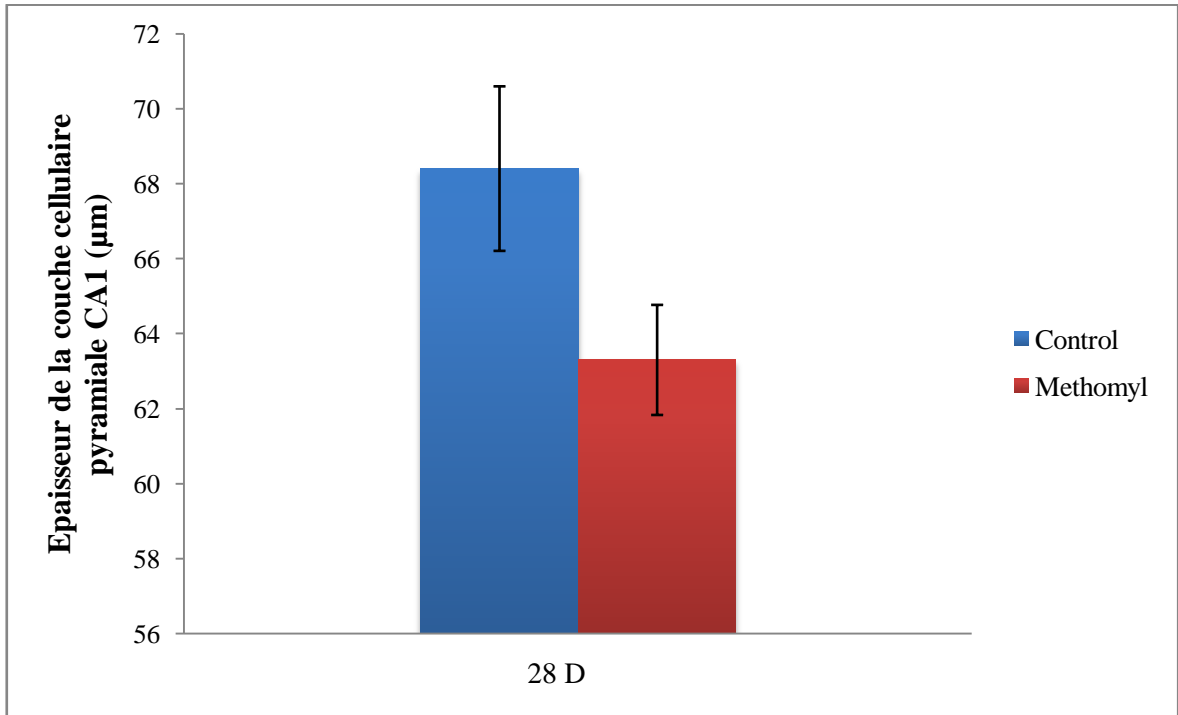
Figure 12. L'effet de methomyl sur l'épaisseur de la couche cellulaire pyramidale CA1 après 28 jours de traitement.

(A) : control. (B) : Traité par le methomyl (coloration de Nissl Gx400).

Tab 5. Représentation de l'épaisseur de la couche cellulaire pyramidale CA1 après 28 jours de traitement.

	Moyenne	SEM
Control	68,41	2,20
Methomyl	63,30	1,47

P=0.038 ; n=12, Avec P : Seuil de signification, n : nombre des rats.



Epaisseur de la couche cellulaire pyramidale CA1 (µm)

L'analyse statistique des résultats de l'épaisseur de la couche cellulaire pyramidale CA1 (µm) a montré une diminution significative ($p=0.038$) chez les groupes traités comparés au control.

1.1.2. La surface de corps cellulaire dans l'hippocampe CA1

L'observation des coupes histologiques de cerveau dans l'hippocampe CA1 traité par la methomyl (B) montre une réduction de surface de corps cellulaire par rapport au témoin (A).

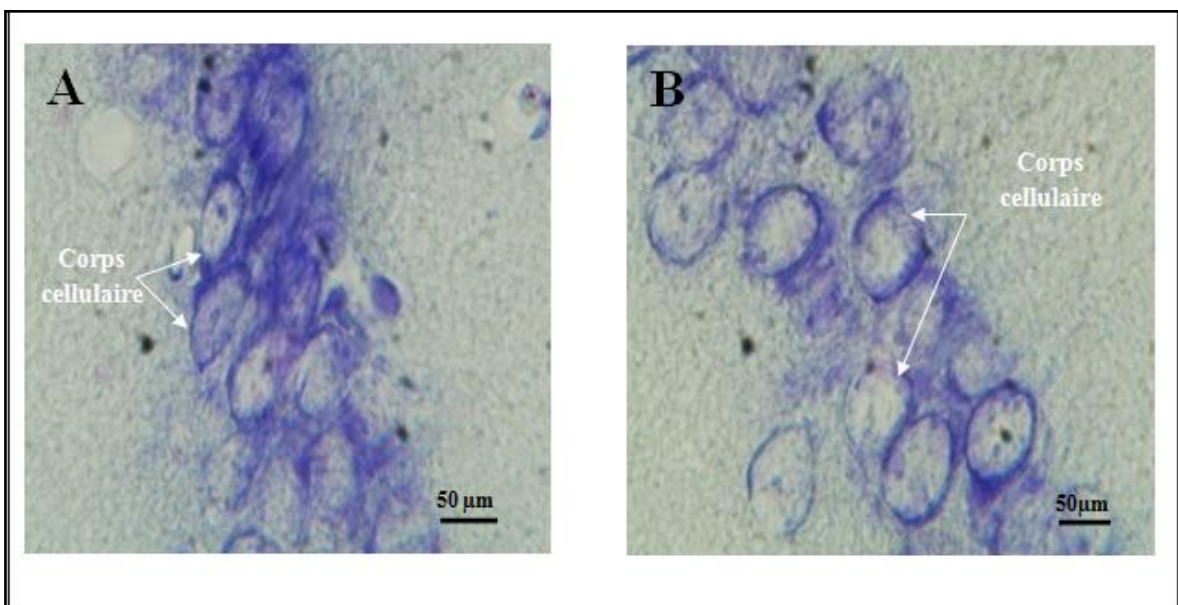
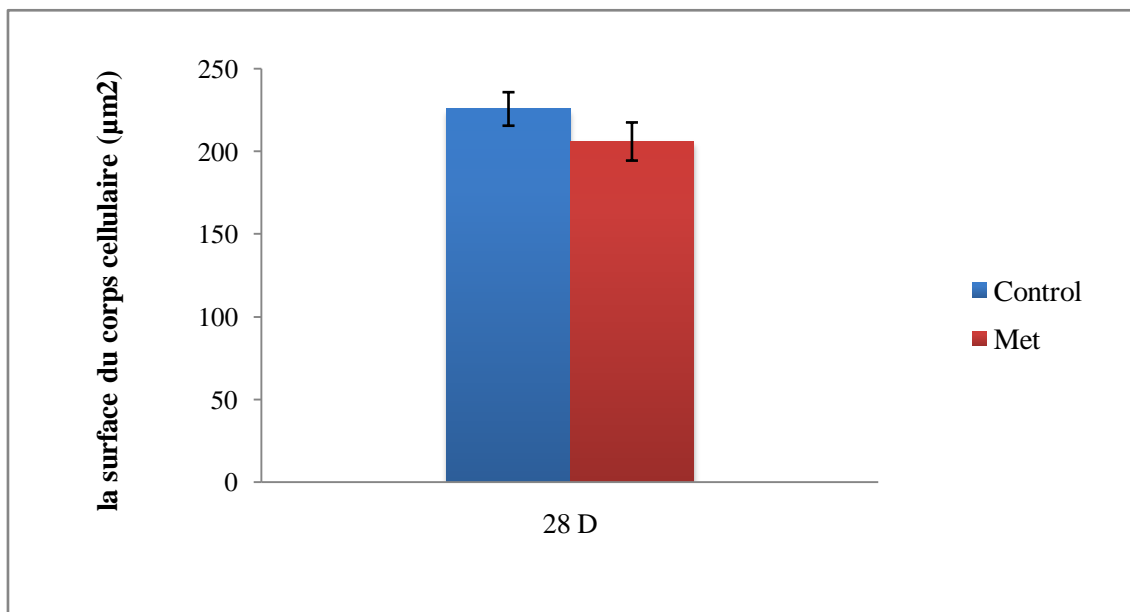


Figure 13. La surface de corps cellulaire dans l'hippocampe CA1 après 28 jours de traitement. (A) : control. (B) : Traité par le methomyl (coloration de Nissl G x400).

Tab.6 Représentation de la surface du corps cellulaire (μm^2).

	Moyenne	SEM
Control	225,86	10,14
Met	206,14	11,55

P=0.186



La surface du corps cellulaire (μm^2)

L'analyse statistique des résultats de surface du corps cellulaire CA1 (μm) a montré une réduction non significative ($p=0.186$) chez les groupes traité comparés au control.

1.1.3. L'effet de Methomyl sur la barrière hémato-encéphalique au niveau de l'hippocampe après 28 jours de traitement

Des coupes histologiques dans l'hippocampe des rats traités par le methomyl (fig.14), montrent une surexpression de GFAP par les cellules cérébrales astrocytaires par rapport aux rats témoins, cette surexpression peut être causé par des lésions et de mort cellulaire après l'exposition sub-chronique à ce pesticide. Ces altérations affectent la fonction des neurones et peuvent contribuer à un dysfonctionnement de ces régions et aussi de cet organe.

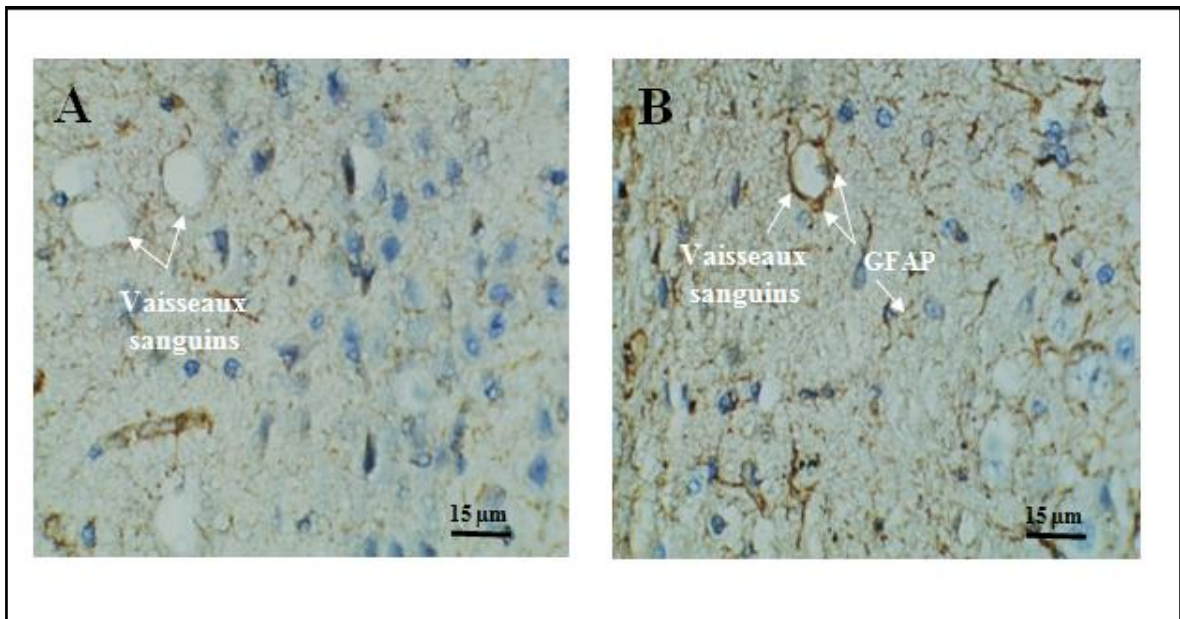


Figure 14. L'effet de Methomyl sur la barrière hémato-encéphalique au niveau de l'hippocampe après 28 jours de traitement

(A) : control. (B) : Traité par le methomyl (Immunohistochimie G x100).

1.1.4. L'effet de Methomyl sur la morphologie des corps cellulaires au niveau du CA1 après 28 jours de traitement

Aussi dans l'hippocampe, (Fig.15) révèle une modification morphologique des corps cellulaires au niveau du CA1 bien visible et une augmentation du nombre des cellules cérébrales astrocytaires de groupe traité par le MET (B) par rapport au groupe témoin (A).

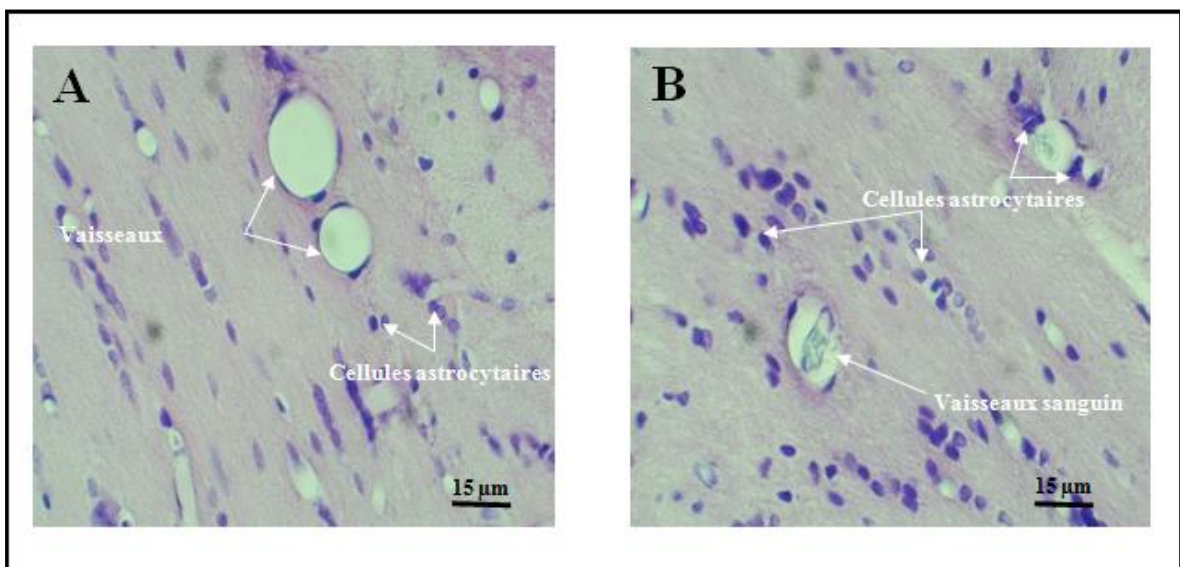


Figure 15. Coupe histologique représente l'effet de Methomyl sur la morphologie des corps cellulaires au niveau du CA1 après 28 jours de traitement

(A) : control. (B) : Traité par le methomyl (coloration de Nissl G x100).

2. Discussion

De nombreuses études ont montré que les pesticides exercent une action neurotoxique chez l'Homme. Le MET est un insecticide de type carbamate peut être l'origine de certaines maladies neuropsychiatriques et neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson (**Palomo et al., 2004; Hayden et al., 2010; Fernando Sanchez-Santed, 2016**).

La plasticité synaptique joue un rôle fondamental dans les processus cognitifs tels que les processus mémorisation et d'apprentissage (**McEwen, 1999**). Plusieurs études ont montré que les pesticides peuvent avoir de graves conséquences sur l'hippocampe qui est responsable de la mémoire. D'autres des études ont mentionné un risque potentiel de l'exposition des OPs sur le fonctionnement des neurones pyramidaux de l'hippocampe (**Daniella et al., 2014**). Parmi les zones les plus touché au niveau de l'hippocampe lors de l'expositions au MET, c'est la zone CA1.

Les résultats obtenus à l'issue de ce travail montrent après une exposition sub-chronique au MET des modifications morphologiques au niveau de soma des neurones pyramidaux qui sont caractérisés par une diminution non significative ($p=0.186$) de la surface de corps cellulaires avec la présence de certaines cellules nécrotiques, cette forme de nécrose est caractérisé par une diminution des somas avec un cytoplasme très dense et un noyau sombre, cette nécrose pourrait être à l'origine de la disparition des neurones ou de la neurodégénérescence, ce qui donne un aspect male organisé à la couche CA1 des rats traités par MET par rapport au rats contrôles. Ces altérations structurales peuvent affecter la fonction des neurones et contribuer à un dysfonctionnement de cette structure (**Syed, 2016**). Plusieurs études, ont signalé que la perturbation de fonctionnement des mitochondries peut induit une altération des neurones (**Clayton et Doda, 2001 ; David et al., 2014 ; Lin et Beal, 2006**). D'après Fernando cette altération peut provoquer une diminution de la production d'ATP et générer le stress oxydative (**Fernando Sanchez-Santed et al., 2016**). Une exposition aigue à l'OPs a induit une diminution de la densité des neurones de l'hippocampe et une réactivité accrue des astrocytes (**Kaur et al., 2017**).

Chapitre III : Résultats et Discussion

Cette altération des neurones pyramidaux au niveau de la zone CA1 après l'exposition au MET, due à une perturbation de la BHE, cette BHE qui joue un rôle très important dans la protection des neurones. Elle est constituée d'une paroi vasculaire entourée par des astrocytes (Cecchelli. R et al., 2007). Grâce à ces pieds astrocytaires, qui la couvrent, les échanges entre le sang et les neurones sont contrôlés. Ces astrocytes contrôlent aussi l'homéostasie cérébrale, les variations de concentration des neurotransmetteurs ou des neuro-hormones (Ezan Pet et al., 2012). Elles fournissent donc des conditions idéales au développement et à la survie des neurones. Si le SNC plus précisément l'hippocampe est endommagé par une substance toxique, les astrocytes réagissent en produisant rapidement plus de la GFAP (Zhang et al., 2017). La GFAP est une protéine très important dans les interactions des astrocytes avec d'autres cellules nerveuses (Pannasch et al., 2011). Dans ce contexte, les résultats de la présente étude ont fait constater une augmentation bien visible de l'expression de la GFAP au niveau cytoplasme de l'hippocampe (CA1) des rats traités au MET par rapport au contrôles (fig14). En effet, la présence de MET au niveau de la zone CA1 conduit à une réactivité anormal des astrocytes. Cette réactivité anormal des astrocytes est caractérisé par une surexpression de la GFAP et peut s'accompagner d'une prolifération astrocytaire, elle est lié à l'activation excessive des astrocytes pour combattre les substances toxiques et protéger les neurones (Zhang. S et al., 2017). Dans des conditions pathologiques, les astrocytes sont susceptibles aux diverses modifications, au niveau de l'expression de GFAP, au niveau du couplage interastrocytaire ou encore au niveau de leur métabolisme. Ce phénomène peut avoir des effets bénéfiques, comme l'augmentation de la recapture du glutamate, ou des effets néfastes comme la perturbation de l'activité neuronale, cette réactivité des astrocytes vis-à-vis des substances toxiques telles que les pesticides à été confirmé par plusieurs études.

La GFAP est l'un des meilleurs marqueurs de la réactivité des astrocytes à la suite d'une agression chimique ou physique dans le SNC (Fawcett, 2001).

Nous avons constaté aussi qu'il y a une expression anormale et une co-localisation élevées des cellules astrocytaires autour les vaisseaux sanguins au niveau de l'hippocampe (CA1) des rats traités par rapport aux rats témoins (fig15).

Tous ces résultats tel que les altérations morphologiques, les signe de nécrose constaté aux niveaux de certains neurones et la réactivité anormale des astrocytes dans

Chapitre III : Résultats et Discussion

l'hippocampe des rat traité par le MET sont des indicateurs de la neurotoxicité. Les cellules de la BHE tel que les astrocytes captent les substances toxique, le dégradent ou bien l'éliminent dans le sang. Le cerveau est ainsi nettoyé. Si la barrière ne fonctionne plus bien, les substances toxiques ne sont plus correctement éliminées, ce qui peut être l'origine de plusieurs maladies tel que l'Alzheimer (**Elena sender, 2015**).

Conclusion
et
perspectives

Conclusion et perspectives

Ce travail nous a permis de connaître l'effet neurotoxique de l'insecticide methomyl d'une dose de 1/16 de la DL50 sur la morphologie des neurones pyramidaux de la zone CA1 et la réactivité des astrocytes au niveau de l'hippocampe et plus précisément au niveau de la barrière hémato-encéphalique après une exposition sub-chronique de 28 jours chez le rat Wistar.

A la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que le traitement des rats par le methomyl, a engendré des modifications morphologiques au niveau de soma de neurones pyramidaux caractérisés par le rétrécissement de la surface du corps cellulaire ainsi que l'apparition des cellules nécrotiques ce qui donne un aspect désorganisé et une diminution dans l'épaisseur de la couche CA1, aussi nous avons constaté une réactivité anormale des astrocytes dans l'hippocampe et dans la BHE qui entoure les vaisseaux sanguins. Cette réactivité des astrocytes est constatée par l'expression de la GFAP.

Les résultats obtenus indiquent que l'exposition sub-chronique au methomyl a des effets néfastes sur les cellules de certaines structures du système nerveux central (provoque des perturbations cellulaires), telles que l'hippocampe se traduisant par une modification morphologique des neurones ou une réactivité anormale des astrocytes qui peuvent être l'origine de plusieurs maladies neuropsychiatriques et neurodégénératives.

A cet effet, il s'avère intéressant d'approfondir ces conclusions par :

- L'exploration des mécanismes moléculaires impliqués dans cette neurotoxicité au niveau de l'hippocampe.
- La détermination de différents mécanismes de protection impliqués par les astrocytes lors de la toxicité par les pesticides.

Abstract

Over the last decade the massive and abusive use of pesticides has adverse effects on the environment and health and more specifically the nervous system. In this work we will study the neurotoxic effect of methomyl (MET) on the reactivity of astrocytes and pyramidal neurons in the CA1 area of the hippocampus after sub-chronic exposure.

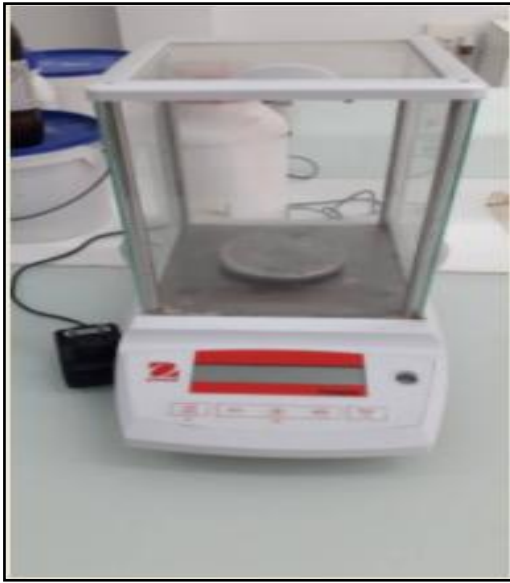
Six adult male Wistar rats are gavaged with a dose of 1/16 of LD 50 of MET dissolved in distilled water and 6 control rats receive distilled water for 28 days. At the end of the experiment, the rats are sacrificed and the brains are removed. The morphometry of the pyramidal neurons of the CA1 region was examined by using the Nissl staining method and the astrocyte reactivity at the blood-brain barrier was also studied.

Our results showed that exposure to MET causes morphological alterations in the pyramidal neurons of the CA1 area of the hippocampus as a decrease in the surface of cell bodies with the presence of some necrotic cells. We also noted alterations in the blood-brain barrier disassembled by overexpression of GFAP (the glial fibrillary acidic protein), abnormal expression and co-localization of astrocyte cells in the cytoplasm and around the blood vessels at the same time in the hippocampus area. This leads to structural modifications of the brain shape and the special structure of the hippocampus.

All these results clearly show that exposure to MET causes structural disturbances for neurons and astrocytes in the hippocampus, which could lead in an increase in the incidence of some neurological pathologies.

Key words: Methomyl, hippocampus, CA1, pyramidal neuron, blood-brain barrier

Annexes



Annexe 1. Balance



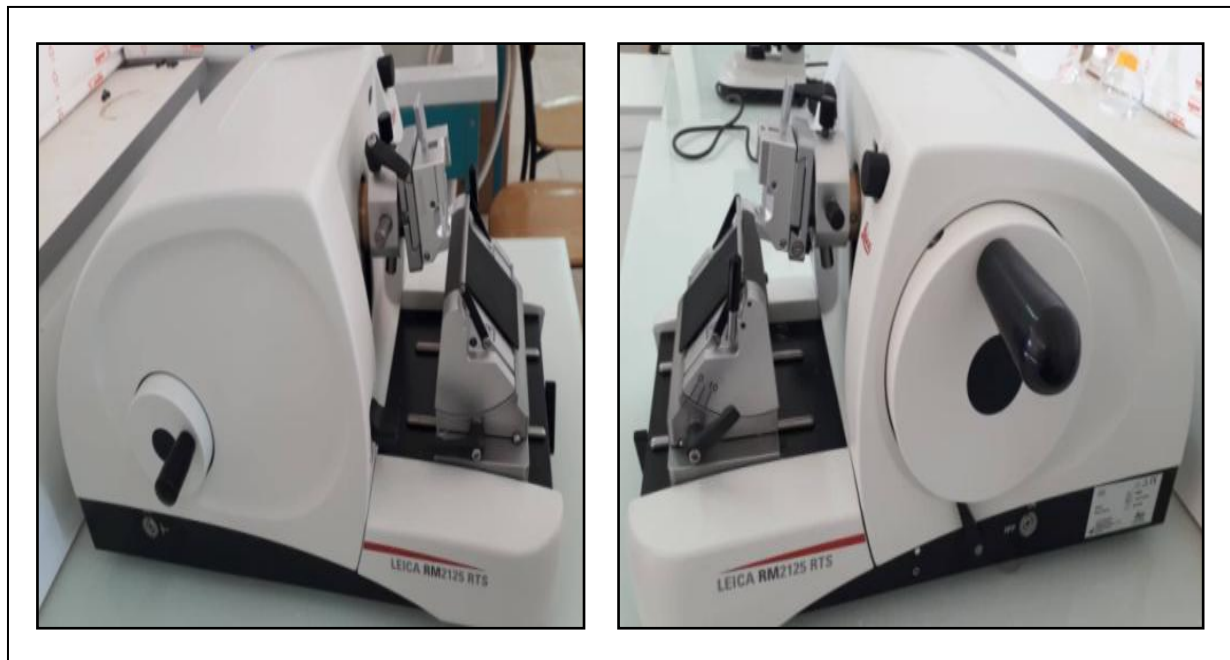
Annexe .2 plaque chauffante (BioCote®)



Annexe 3. Etuve (Memmert®)



Annexe 4. Hotte biologique (BIOBASE®.made in china)



Annexe 5. Microtome (LEICA®.made in china)

Liste des références

A

- ACTA. Index Phytosanitaire. 41ème éd. Paris. France. (2005). 820p.
- Agrawal A., Sharma B. Pesticides induced oxydative stress in mammalian system. *Int. J. Biol. Med. Res.* (2010). 1(3): 90-104.
- Amaral DG, Witter MP. The hippocampal formation in the rat nervous system. J. Paxinos. (1995). 443-493.
- Amit Ranjan, Jitendra Behari, Birendra N. Mallick. Cytomorphometric changes in hippocampal CA1 neurons exposed to simulated microgravity using rats as model. *Frontiers in Neurology.* (20/05/2014). Vol. 5(77) :1-10.
- Aqua portail. Définition astrocyte. (14/09/2018). Site visité le 7/05/2019.[en ligne]. <https://www.aquaportail.com/definition-11239-astrocyte.html>
- [Anonym].Protocol general d'immunohistochimie (IHC). Site visité le 12/05/2019 [en ligne]. https://www.clinisciences.com/lire/immunohistochimie-immunofluorescence-659/protocole-general-d-immunohistochimie957.html?fbclid=IwAR1iraYnU_Umdu340skUuZJjWMITPoD4ikvHAd9frCZRIW0q7KNLrsLDM_U

B

- Ballabh P., Braun A., et Nedergaard M. The blood-brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiol.Dis.* (2004). 16: 1-13.
- Baltazar MT, Dinis-Oliveira RJ, de Lourdes Bastos M, Tsatsakis AM, Duarte JA, Carvalho F. Pesticides exposure as etiological factors of Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases--a mechanistic approach. *Toxicol Lett.* (2014). 230:85–103.
- Banerjee, S., & Bhat, M. A. Neuron-glia interactions in blood-brain barrier formation. *Annual review of neuroscience*, (2007). 30, 235–258.
- Baron R.L. Carbamate insecticides. In: Hayes W.J., Laws E.R. (Eds.). *Handbook of Pesticide toxicology*. Academic Press, New York. (1991). Vol 3 : 1125-1189.
- Bear MF, Connors BW, Paradiso MA. *Neuroscience, Exploring the Brain*. Fourth Edition. New York. ISBN. (2016). 978-0-7817-7817-6. 612.8-dc23. 1019pp

- Belhaouchet N. Evaluation de la toxicité du Spinosad « insecticide nouvellement introduit en Algérie » sur un modèle expérimental bioindicateur de la pollution « *Helix aspersa* ». Thèse Doctorat LMD. Université Badji Mokhtar-Annaba. (2014). 17-82
- BERGER François. Chapitre 3 (partie 1) : Biologie cellulaire du système nerveux central : 1- La cellule neuronale. Université de Grenoble. (2011). P 92
- Block ML and Hong JS. Microglia and inflammation mediated neurodegeneration: Multiple triggers with a common mechanism. *Prog in neurobiology*. (2005). 11-22
- Bourbia S. Évaluation de la toxicité de mélanges de pesticides sur un bio-indicateur de la pollution des sols *Helix aspersa*, Thèse Doctorat. Univ Annaba. (2013). 177pp
- Bolam JP. Experimental Neuroanatomy. A practical approach. In *The Practical Approach series*. Rickwood D and Hames D, eds. Oxford University Press. (1992).
- Brown A. M. et Ransom B. R. Astrocyte glycogen and brain energy metabolism. *Glia*. (2007). 55: 1263-1271.
- Bushong EA, Martone ME, Jones YZ, Ellisman MH. Protoplasmic astrocytes in CA1 stratum radiatum occupy separate anatomical domains. *J Neurosci*. (2002). 22:183-192.

C

- Cambier J, Masson M, Dehen H, Masson C. Neurologie. (2008). 12^{ème} édition. Elsevier Masson. 540pp.
- Cecchelli R, Berezowski V, Lundquist S. Modelling of the blood-brain barrier in drug discovery and development. *Nat Rev Drug Discov*. (2007). 6: 650–661.
- Christensen HL, Nguyen AT, Pedersen FD, Damkier HH. Na⁺ dependent acid-base transporters in the choroid plexus; insights from slc4 and slc9 gene deletion studies. *Front Physiol*. (2013). 4 (304).
- Clayton DA and Doda JN. Isolation of mitochondria from cells and tissues. Press Beijing China, (2001). 356-361.
- Clive T. Methomyl. In: Tomlin C.D.S. The pesticide manual. British Crop Protection Council, Surrey, UK. (2001). 60-21.
- Cotonat J. La toxicologie. Presses universitaires de France, Paris. (1996). 127p.
- Couteux A., Salaün C. Index phytosanitaire ACTA. (2009). 45^{ème} édition. Association de Coordination Technique Agricole. MAME.

D

- Daniella M. Pizzurroa, Khoi Daa, and Lucio G. Costaa B. (2014). Diazinon and diazoxon impair the ability of astrocytes to foster neurite outgrowth in primary hippocampal neurons. A Department of Environmental and Occupational Health Sciences, University of Washington, Seattle, WA, USA. *Toxicol Appl Pharmacol.* 274(3): 372–382.
- Dardiotis E, Xiromerisiou G, Hadjichristodoulou C, Tsatsakis AM, Wilks MF, Hadjigeorgiou GM. The interplay between environmental and genetic factors in Parkinson's disease susceptibility: the evidence for pesticides. *Toxicology.* (2013). 307:17–23.
- David A, Clayton S, Gerald S. Isolation of Mitochondria from Tissue Culture Cells, *Cold Spring Harb Protocols.* (2014). Doi: 10.1101/080002.
- Djeflal A. Evaluation de la toxicité d'un insecticide carbamate « méthomyl » chez le rat Wistar : Stress oxydant et exploration des effets protecteurs de la supplémentation en sélénium et/ou en vitamine C. Thèse Doctorat. Université Badji Mokhtar. Annaba. (2014). 225p.
- Doctissimo Santé. La moelle épinière. (2018). Site visité le 05/05/2019.[en ligne]. <http://www.doctissimo.fr/sante/dictionnaire-medical/moelle-epiniere>.

E

- Ecobichon D.J. Carbamate Insecticides. In: Krieger R., Doull J., Ecobichon D.J., Gammon D., Hodgson E., Reiter L., Ross J. (Eds.). *Handbook of Pesticide Toxicology.* 2nd edition. Academic Press, New York. (2001). 1087-1107.
- EFSA (European Food Safety Authority). Conclusion on Pesticide Peer Review Regarding the Risk Assessment of the Active Substance Methomyl. EFSA Scientific Report. (2008). 222. 1-99.
- Elena Sender. Alzheimer: un problème "d'étanchéité" du cerveau. *Science et Avenir* n° 817. (2015). Site visité le 29/04/2019. [en ligne]. https://www.sciencesetavenir.fr/sante/alzheimer-un-probleme-d-etancheite-du-cerveau_28646.
- El Hassani AK, Dacher M, Gary V. Effects of Sublethal Doses of Acetamiprid and Thiamethoxam on the Behavior of the Honeybee. *Arch Environ Contam Toxicol.* (2008). 54(653).
- El Mrabet Khadija. Développement d'une méthode d'analyse de résidu de pesticide par dilution isotopique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem dans les matrices céréalières après extraction en

solvant chaud pressurisé. Thèse de doctorat. Université PIERRE ET MARIE CURIE.Paris). (2008). p295.

- Elodie Barat. Etude des interactions entre neurones et astrocytes au sein de la substance noire réticulée. Thèse doctorat, Neurosciences. Université de Grenoble. Français. (5 octobre 2012). P187. <NNT : 2012GRENV050>. <tel-00906952>
- Etemadifar M, Abtahi SH, Akbari M, Maghzi AH. Multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis: is there a link? *Mult Scler.* (2012). 18:902–904.
- Ezan P. André P. Cisternino S. Saubaméa B. Boulay A. C. Doutermer S. Thomas M.A. Quenech'du N. Giaume C. et Cohen-Salmon M. «Deletion of astroglial connexions weakens the blood-brain barrier», *journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, (4 avril 2012). [doi: 10.1038].

F

- Farina C., Aloisi F., et Meinl E. Astrocytes are active players in cerebral innate immunity. *Trends Immunol.* (2007). 28: 138-145.
- Farré M., Fernandez J., Paez M., Granada L., Barba L., Gutierrez H. M., Pulgarin C., Barceló D. Analysis and toxicity of methomyl and ametryn after biodegradation. *Anal. Bioanal. Chem.* (2002). 373: 704-709.
- Fawcett JW. The astrocyte/meningeal cell interface-a barrier to successful nerve regeneration? *Cell Tissue Res*; (2001). 305: 267–73.
- Fernando Sanchez-Santed, Maria Teresa Colomina and Elena Herrero Hernandez. Organophosphate pesticide exposure and neurodegeneration. *Cortex.* (2016). 74: 417- 426. www.elsevier.com/locate/cortex.

G

- Gasmi Salim. Neurotoxicité de deux pesticides (Acetamipride et Deltamethrine) et la prévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat, Thèse Doctorat, Université de Tébessa. (2018). 217p.
- Genton. C.Y. L'immunohistochimie: Son principe, ses applications et ses limites. *Clinics in Mother and Child Health.* (2006). Vol. 3(1): 477-481.
- Gordon G. R., Mulligan S. J., et MacVicar B. A. Astrocyte control of the cerebrovasculature. *Glia.* (2007). 55: 1214-1221.
- Graves, A. R., Moore, S. J., Bloss, E. B., Mensh, B. D., Kath, W. L., & Spruston, N. Hippocampal pyramidal neurons comprise two distinct cell types that are countermodulated by metabotropic receptors. *Neuron*, (2012). 76(4), 776–789.

- Guler GO, Cakmak YS, Dagli Z, Aktumsek A and Ozparlak H. (2010). Organochlorine pesticide residues in wheat from Konya region, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*. 48: 1218-1221
- Guzowski JF, Knierim JJ, Moser EI. *Ensemble dynamics of hippocampal regions CA3 and CA1. Neuron*. (2004). 44: 581–584.

H

- Hawkins B. T. et Davis T. P. The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease. *Pharmacol.Rev.* (2005). 57: 173-185.
- Hayden KM, Norton MC, Darcey D, Ostbye T, Zandi PP, Breitner JC. Occupational exposure to pesticides increases the risk of incident AD. *Neurology*. (2010). 74: 1524–1530.
- Hélène BENSOUSSAN. Effets d'une contamination chronique à l'uranium sur le système cholinergique : approches *in vivo* et *in vitro*. UNIVERSITE PARIS XI FACULTE DE MEDECINE PARIS-SUD. (28 septembre 2009). p305.
- Histalim. Crésyl violet. (2015). Site visité le 13/05/2019.[en ligne] <https://www.histalim.com/fr/accueil/activites/nos-services/histologie/cresyl-violet/>

I

- Institut national du cancer. Tumeurs du cerveau: Le cerveau. Les différentes parties. (2017). site visité le 8/5/2019.[en ligne]. <https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Tumeurs-du-cerveau/Le-cerveau/Les-differentes-parties>
- IPCS (International Programme on Chemical Safety). (1996). Methomyl-Environmental Health Criteria 178. World Health Organization, Geneva, Switzerland. 150p.

J

- Jean-françois V, Alain S, Marie-Claude LR, François B. Neurophysiologie de la physiologie à l'exploration fonctionnelle. *Neuro*. (2005). 1(1): 03-25
- JoVE. (2019). Science Education Database. *L'essentiel de la Neurosciences*. Coloration histologique de tissus neuronaux. JoVE, Cambridge, MA.

K

- Kaur G, Jain A. K. and Singh S. CYP/PON genetic variations as determinant of organophosphate pesticides toxicity. *J. Genet*. (2017). 96, 187-201.
- Khene M'hammed Amine, Kahina Chabane, Nawel Habchi, Saadia Mameri, Ahsene Baz. L'effet neurotoxique de methomyl sur la réactivité des astrocytes et

l'activité de l'acétylcholinestérase tissulaires au niveau de l'hippocampe après une exposition sub-chronique. *revue neurologique*. (2017). 56 : 36–80.

- Khene M'hammed Amine, Nawel Habchi, Kahina Chabane, Hassina Belblidia, Giaimis Jean, Ahsene Baz. L'exposition sub-chronique au pesticide methomyl provoque un déficit de la mémoire de travail spatiale et l'altération de la neuroplasticité au niveau de la CA1 de l'hippocampe chez le rat Wistar. (2018). 27:2-54.
- Kidd H., James D.R. *The agrochemicals handbook*. 3rd edition. Royal Society of Chemistry Information Services, Cambridge, England. (1991).
- Kim J. H., Kim J. H., Park J. A., Lee S. W., Kim W. J., Yu Y. S., et Kim K. W. Blood-neural barrier: intercellular communication at glio-vascular interface. *J.Biochem.Mol.Biol.* (2006), 39: 339-345.

L

- La douleur. Quelques données anatomiques et fonctionnelles importantes sur le système nerveux. (2017). Site visité le 5/05/2019.[en ligne]. <https://www.biotope.net/La%20douleur/Rappels.htm>.
- Lin MT and Beal MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nat.* (2006). 787-95.

M

- Makrides C., Koukouvas M., Achillews G., Tsikkos S., Vounou E., Symeonides M, Christodoulides P, Ioannides M. Methomyl-induced severe acute pancreatitis: possible etiological association. *Journal of Pancreas*. (2005). 6(2): 166-171.
- Marie -Céline Ray.Cerveau, neurone pyramidale,axon. *Futura santé*. (2018). Site visité le 9/05/2019. [enligne]. <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/cerveau-neurone-pyramidal-16175/>
- Mansour S.A., Mossa A.T.H., Heikal T.M. Effects of methomyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat erythrocytes: *In vitro* studies. *Toxicol. Indust. Health*. (2009). 25(8): 557-563.
- Marques S, Outeiro TF. Epigenetics in Parkinson's and Alzheimer's diseases. *Subcell Biochem*. (2013). 61:507–525.
- McEwen. B. S. Stress and hippocampal plasticity. *Annual Review of Neuroscience*, (1999). 22: 105-122.

- Mohajeri SA. Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates: A systematic review. *Hum Exp Toxicol.* (2011). 30(9):1119-1140

N

- Nicolas TONI. Modification morphologique associées à la plasticité synaptique. Thèse de doctoret. Université de Genève. La suisse. (2000).

-

O

- Oberheim NA, Wang X, Goldman S, Nedergaard M. Astrocytic complexity distinguishes the human brain. *Trends Neurosci.* (2006). 29:547-553.

P

- Pannasch U. Vargovà L. Reingruber J. Ezan P. Holcman D. Giaume C. Sykovà E. et Rouach N. «Astroglial networks scale synaptic activity and plasticity», *Proceeding National Academy Sciences (USA)*, (2011). 108, 8467-847.
- Palomo T, Archer T, Benninger R and Kostrzewa R. Gene-environment interplay in neurogenesis and neurodegeneration. *Neurotoxicology Research.* (2004). 6: 415–434.
- Pascal H. Le système nerveux. 2ème édition. (2010). 44-62pp
- Petty M. A. et Lo E. H. Junctional complexes of the blood-brain barrier: permeability changes in neuroinflammation. *Prog.Neurobiol.* (2002), 68: 311-323.
- Pierre Dubus. Méthodes d'études en Histologie. PACES et Concours paramédicaux.Université Bordeaux Segalen. (2013). Consulté le 12/05/2019.[en ligne]. <https://docplayer.fr/17489601-Methodes-d-etudes-en-histologie-paces-et-concours-paramedicaux.html>
- Prat A, Biernacki K, Wosik K, Antel JP. (Glial cell influence on the human blood-brain barrier. *Glia.* Nov; 2011). 36(2):145-55.

R

- Reichel F-X. Guide pratique de toxicologie. 2e édition. De Boeck, Bruxelles. (2010). 202, 203, 148.

S

- SAGE pesticide. Effets toxiques des matières actives.Toxicologie de la matière active : méthomyl. (2019). site visité le 27/05/2019. [en ligne] <https://www.sagepesticides.qc.ca/Recherche/RechercheMatiere/DisplayMatiere?MatiereActiveId=147>.

- Shalaby M.A., El Zorba H.Y., Ziada R.M. Reproductive toxicity of methomyl insecticide in male rats and protective effect of folic acid. *Food and Chemical Toxicology*. (2010). 48: 3221-3226.
- Sinhaseni P., Foongvidya S., Tayaputch N. Exposure evaluation is a crucial step for Quantitative risk assessment of methomyl. *Arh. Hig. Rada. Toksikol.* (1995). 46: 301-306.
- Soprano AM and Narbona J. La mémoire de l'enfant : développement normal et pathologique, traduction : léonard vannetzel, isalaure lemaine. Elsevier Masson. (2009). 200pp.
- Stoytcheva M. Pesticides in the Modern World-Risks and Benefits. InTech. ISBN 978-953. (2011). 560p.
- Stachowski-Haberkorn S. Méthodes d'évaluation de l'impact de pesticides sur le phytoplancton marin et le naissain d'huître creuse Université de Bretagne Occidentale. (2008). 187pp
- Strathmann T.J., Stone A.T. Reduction of the pesticides oxamyl and methomyl by Fe(II): reaction kinetics and mechanism. *Environ. Sci. Technol.* (2001). 35: 2461-2469.
- Syed. Hematological, biochemical, and toxicopathic effects of subchronic acetamiprid toxicity in Wistar rats. *Environ Sci Pollut Res.* (2016). Doi: 10.1007/s11356-016-9.

T

- Tamimi M., Qourzal S., Barka N., Assabbane A., Ait-Ichoua Y. Methomyl degradation in aqueous solutions by Fenton's reagent and the photo-Fenton system. *Sep. Purif. Technol.* (2008). 61:103-108.
- Testud F., Grillet J.-P. Insecticides organophosphorés, carbamates, pyréthriinoïdes de synthèse et divers. EMC. Toxicologie-Pathologie Professionnelle. (2007). 16-059-C-15
- Tomlin C.D.S. The pesticide manual. 12th edition. The British Crop Protection Council, Surrey, UK. (2000). 620-621p.
- Tomlin C.D.S. The Pesticide Manual. 13th edition. British Crop Protection Council, Surrey, UK. (2006). 697-698p.
- Tomlin C.D.S. The Pesticide Manual. 15th edition. BCPC Publications. (2009). 757p.
- Toumi H. Ecotoxicité de la deltaméthrine et du malathion sur différentes souches de *Daphnia magna*. Thèse doctorat. (2013). 208p

- Tsai M.J., Wu S.N., Cheng H.A., Wang S.H., Chiang H.T. An outbreak of foodborne illness due to methomyl contamination. *Journal of Toxicology Clinical Toxicology*. (2003). 41(7): 969-973.

U

- Utip B, Young B, Ibiang E, Victor I, Bassey E, Francis A. Effect of Deltamethrin and Ridomil on Sperm Parameters and Reproductive Hormones of Male Rats. *Toxicol Environ Health* (2013). 9-14p.

V

- Van Scoy A.R., Yue M., Deng X., Tjeerdema R.S. Environmental Fate and Toxicology of Methomyl. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. (2013). 222: 93- 109.
- Viapiano Lab. (2007). PROTOCOL FOR CRESYL VIOLET STAINING (“NISSL STAIN”).
- Virchow R. (1858). Die cellularpathologie in ihrer Begründung auf physiologische und pathologische Gewebelehre.

W

- WHO (World Health Organization). The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification: 2004. World Health Organization, Geneva, Switzerland. (2005). 19p.
- WHO (World Health Organization). (2019). site visité le 22-02-2019 ; Highly hazardous pesticides. [en ligne] https://www.who.int/ipcs/assessment/public_health/pesticides/en/
- William P. Anatomie et physiologie in organisation générale et physiologie humain (1981). 209-214p.

Z

- Zhang, S., Wu, M., Peng, C., Zhao, G., & Gu, R. GFAP expression in injured astrocytes in rats. *Experimental and therapeutic medicine*, (2017). 14(3), 1905–1908.
- Zlokovic B. V. et Apuzzo M. L. Strategies to circumvent vascular barriers of the central nervous system. *Neurosurgery*. (1998). 43: 877-878.

المخلص

على مدار العقد الماضي، كان للاستخدام الهائل والمسيء للمبيدات آثار ضارة على البيئة والصحة وعلى الأخص الجهاز العصبي. في هذا العمل سوف ندرس تأثير السمية العصبية الميثوميل (MET) على نشاط الخلايا النجمية والخلايا العصبية الهرمية في منطقة CA1 من الحصين بعد التعرض شبه المزمن.

تم تغذية ستة فئران ذكور بالغة من فصيلة Wistar بجرعة تبلغ 16/1 من LD 50 من MET مذابة في ماء مقطر و 6 فئران شاهدة تلقى ماء مقطر لمدة 28 يوماً. في نهاية التجربة، تم التضحية بالفئران وتمت إزالة الأدمغة. تم فحص قياس تشكل الخلايا العصبية الهرمية في منطقة CA1 بواسطة تلوين Nissl ودراسة تفاعل الخلايا النجمية عند حاجز الدم في الدماغ.

أظهرت نتائجنا أن التعرض لـ MET يسبب تغيرات مظهرية في الخلايا العصبية الهرمية في منطقة CA1 من الحصين كإنخفاض في سطح أجسام الخلايا مع وجود بعض الخلايا الميتة. لاحظنا أيضاً حدوث تغيرات في حاجز الدم في الدماغ من خلال الإفراط في التعبير عن GFAP (البروتين الحمضي الليفي الدبلي)، والنشاط غير الطبيعي للخلايا النجمية في السيتوبلازم وحول الأوعية الدموية في نفس الوقت. وهذا ما قد يؤدي إلى تعديلات هيكلية في شكل الدماغ والبنية الخاصة للحصين.

كل هذه النتائج تظهر بوضوح أن التعرض الميثوميل (MET) يسبب اضطرابات هيكلية للخلايا العصبية والخلايا النجمية على مستوى الحصين، مما قد يؤدي إلى زيادة في حدوث بعض الأمراض العصبية.

الكلمات المفتاحية: الميثوميل، الحصين، CA1، الخلايا العصبية الهرمية، حاجز الدم في الدماغ.