

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة باجي مختار- عنابة

Université Badji Mokhtar-ANNABA

Faculté des sciences

Département de Biologie

THESE

Présentée En vue de l'Obtention du Diplôme de Doctorat en Biologie Animale

Option : NEUROSCIENCES

THEME

---

**ETUDE DE L'EFFET D'UN FLAVONOÏDE (QUERCÉTINE) ET D'UN  
STILBÉNOÏDE (RESVÉRATROL) SUR LA TOXICITÉ INDUITE PAR LE  
FENTHION CHEZ LE RAT MALE WISTAR**

---

Présentée par: Mr. BOUHALI IMED EDDINE

Devant le jury

|                               |            |              |                      |
|-------------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Mr OUKID Mohamed Laïd         | Professeur | Président    | Université d'Annaba  |
| Mr TAHRAOUI Abdelkrim         | Professeur | Directeur    | Université d'Annaba  |
| Mr BAIRI Abdelmadjid          | Professeur | Examineur    | Université d'Annaba  |
| M <sup>me</sup> TADJINE Aïcha | Professeur | Examinatrice | Université d'El Tarf |
| M <sup>me</sup> SOUIKI Lynda  | MCA        | Examinatrice | Université de Guelma |

Année universitaire 2015-2016

## *Remerciements*

*Je tiens à remercier très vivement Monsieur le Professeur **Mohamed Laid OUAKID** qui nous a fait l'honneur de présider le jury.*

*Mes sincères remerciements, ma reconnaissance et ma gratitude extrême s'adressent à Monsieur le Professeur **Abdelkrim TAHRAOUI** pour sa disponibilité, ses conseils, ses encouragements inestimables et ses généreuses explications, en me laissant une large liberté pour mener à bien cette étude.*

*Je remercie très vivement Monsieur le Professeur **Abdelmadjid BAIRI** qui a accepté de faire partie du jury et d'apporter ses critiques constructives.*

*Je tiens à exprimer mes remerciements à Madame le Professeur **Aïcha TADJINE** qui nous honore de sa présence en examinant ce travail.*

*Je voudrais aussi remercier chaleureusement Madame le Docteur **Lynda SOUIKI** qui a bien voulu accepté de juger ce travail.*

*Un merci infini à tous mes collègues du laboratoire de Neuroendocrinologie appliquée.*

## **ABSTRACT**

Fenthion is an organophosphate pesticide widely used in agriculture; however, exposure to these molecules can cause neurotoxicity. The aim of this work tends to examine, firstly, the effect of repeated exposure of fenthion at dose 20mg /kg of body weight for ten consecutive days on neurobehavioral responses, the activity of acetylcholinesterase, brain oxidative status, immune and biochemical changes, and on the other hand, the capacity of both polyphenols (quercetin, resveratrol and their mixture) to alleviate the induced alterations. Our results show that exposure to fenthion causes anxiety and depression and impaired responses of the exploratory and ambulatory activity associated with the inhibition of acetylcholinesterase activity and triggering a cerebral oxidative stress revealed by the decrease in activity of glutathione-S-transferase (GST), increase the rate of malondialdehyde (MDA) and reduced glutathione depletion rate (GSH). In addition, the appearance of cholinergic stress, oxidative stress and anxiety and has been associated with immune and biochemical changes revealed by the disruption of leukocyte profile (LYM, MON, NEUT, and EOS), metabolic parameters (total cholesterol, triglycerides, total protein, glucose) and plasma enzyme activity (ALT, AST, and ALP). Moreover, pretreatment by polyphenols attenuated these alterations. We can conclude that the behavioral deficits induced by fenthion are associated with cholinergic and oxidative stress, as well as immune and biochemical changes. Finally, a rich nutrient intake of polyphenols seems benefic to prevent the neurotoxicity of organophosphates, especially for people who have direct contact with these molecules.

**Keywords:** Fenthion, anxiety, depression, quercetin, resveratrol, immunity, oxidative stress.

## المخلص

الفانتيون هو مبيد فوسفاتي عضوي يستخدم على نطاق واسع في الزراعة ومع ذلك فإن التعرض لهذه الجزيئات يمكن أن يسبب السمية العصبية. إن الهدف من هذا العمل هو دراسة تأثير التعرض المتكرر للفانتيون بجرعة 20مغ/كغ لمدة عشر أيام على التوالي على الاستجابات السلوكية العصبية، نشاط الأستيل كولين استراز، الأكسدة الدماغية والتغيرات المناعية والكيميائية الحيوية ومن ناحية أخرى، قدرة كل من البوليفينول (كيرسيتين، ريسفيراترول وخليط منهم) التخفيف من التغيرات التي يسببها. نتائجا تظهر أن التعرض للفانتيون يسبب القلق، الاكتئاب و ضعف النشاط الاستكشافي وتثبيط الاستيل كولين استراز وإثارة الأكسدة الدماغية التي كشفت عنها زيادة معدل المالمونالدهيد، انخفاض نشاط الجلوتاثيون-S-ترانسفيراز و معدل الجلوتاثيون. بالإضافة إلى ذلك، ارتبط ظهور الأكسدة الكولينية الدماغية والقلق مع التغيرات المناعية والكيمياء الحيوية التي كشفت عنها اختلال الكريات البيض، المؤشرات الأيضية (الكولسترول الكلي والدهون الثلاثية، البروتين الكلي والجلوكوز) ونشاط انزيمات البلازما وعلاوة على ذلك، المعالجة بمادة البوليفينول قلصت من التغيرات التي يسببها الفانتيون. نستنتج أن العجز السلوكي الناجم عن الفانتيون مرتبط مع تثبيط الكولين استيراز والأكسدة الدماغية، فضلا عن التغيرات البيوكيميائية و المناعية. وأخيرا تناول المواد الغذائية الغنية من مادة البوليفينول يبدو مفيدا لمنع السمية العصبية من المبيدات الفوسفات عضوية، خاصة بالنسبة للأشخاص الذين لديهم اتصال مباشر مع هذه الجزيئات.

**الكلمات المفتاحية:** فانتيون، قلق، اكتئاب، كرسيتين، ريسفيراترول، مناعة، الأكسدة الدماغية

## **RESUME**

Le fenthion est un pesticide organophosphoré largement utilisé en agriculture, cependant, l'exposition à ces molécules peut provoquer des manifestations neurotoxiques. Le but de ce travail tend à étudier, d'une part, l'effet de l'exposition répétée à raison de 20mg/kg de poids corporel pendant dix jours consécutifs sur les réponses neuro-comportementales, l'activité de l'acétylcholinestérase et le statut oxydatif cérébral ainsi que les changements immunitaires et biochimiques, et d'autre part, la capacité des deux polyphénols (quercétine, resvératrol et leur mélange) à alléger les altérations induites. Nos résultats montrent que l'exposition au fenthion provoque des réponses anxio-dépressives et une détérioration de l'activité exploratoire et ambulatoire associée à l'inhibition de l'acétylcholinestérase et au déclenchement d'un stress oxydatif cérébral révélé par la diminution de l'activité de la glutathion-S-transférase (GST), l'augmentation du taux du malondialdéhyde (MDA) et la déplétion du taux du glutathion réduit (GSH). En plus, l'apparition du stress cholinergique et anxio-oxydatif a été associé à des variations immunitaires et biochimiques révélées par la perturbation du profil leucocytaire (LYM, MON, NEUT, EOS), métabolique (Cholestérol total, Triglycérides, Protéines totales, Glycémie) et l'activité enzymatique plasmatique (ALAT, ASAT, PAL). Par ailleurs, Le prétraitement par les polyphénols a atténué les altérations induites. Nous pouvons conclure que les déficits comportementaux induits par le fenthion sont associés au stress cholinergique et oxydatif, ainsi qu'à des changements immunitaires et biochimiques. Finalement, un apport nutritif riche en polyphénols semble être bénéfique pour prévenir la neurotoxicité des organophosphorés, surtout, pour les gens ayant un contact direct avec ces molécules.

**Mots Clés :** Fenthion, anxiété, dépression, quercétine, resvératrol, immunité, stress oxydatif.

## **LISTE DES FIGURES**

| <b>N°</b>  | <b>FIGURE</b>   | <b>Page</b> |
|------------|---|-------------|
| <b>01</b>  | <b>Structure du fenthion</b>  | <b>11</b>   |
| <b>02</b>  | <b>Structure de la quercétine</b>   | <b>12</b>   |
| <b>03</b>  | <b>Structure du resvératrol</b>   | <b>14</b>   |
| <b>04</b>  | <b>Illustration schématique du champ ouvert</b>                               | <b>16</b>   |
| <b>05</b>  | <b>Illustration schématique du labyrinthe en croix surélevé</b>               | <b>17</b>   |
| <b>06</b>  | <b>Illustration schématique du test de la nage forcée</b>                     | <b>18</b>   |
| <b>07</b>  | <b>Protocole expérimental</b>   | <b>34</b>   |
| <b>08</b>  | <b>Variation du poids corporel chez les rats témoins et traités</b>           | <b>35</b>   |
| <b>09a</b> | <b>Temps passé dans les bras fermés chez les rats témoins et traités</b>      | <b>37</b>   |
| <b>09b</b> | <b>Temps passé dans les bras ouverts chez les rats témoins et traités</b>     | <b>38</b>   |
| <b>09c</b> | <b>Nombre d'entrées dans les bras fermés chez les rats témoins et traités</b> | <b>38</b>   |
| <b>09d</b> | <b>Nombre d'entrées dans les bras fermés chez les rats témoins et traités</b> | <b>39</b>   |
| <b>10a</b> | <b>Distance parcourue chez les rats témoins et traités</b>                    | <b>41</b>   |
| <b>10b</b> | <b>Temps passé dans la zone périphérique chez les rats témoins et traités</b> | <b>41</b>   |
| <b>10c</b> | <b>Temps passé dans la zone centrale chez les rats témoins et traités</b>     | <b>42</b>   |
| <b>10d</b> | <b>Nombre de redressements chez les rats témoins et traités</b>               | <b>42</b>   |
| <b>11a</b> | <b>Variation du temps d'immobilité chez les rats témoins et traités</b>       | <b>44</b>   |
| <b>11b</b> | <b>Variation du temps de nage chez les rats témoins et traités</b>            | <b>45</b>   |
| <b>11c</b> | <b>Variation du temps d'escalade chez les rats témoins et traités</b>         | <b>45</b>   |
| <b>12a</b> | <b>Nombre des leucocytes totaux chez les rats témoins et traités</b>          | <b>48</b>   |
| <b>12b</b> | <b>Taux de lymphocytes chez les rats témoins et traités</b>                   | <b>48</b>   |
| <b>12c</b> | <b>Taux de neutrophiles chez les rats témoins et traités</b>                  | <b>49</b>   |
| <b>12d</b> | <b>Taux des monocytes chez les rats témoins et traités</b>                    | <b>49</b>   |

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| <b>12e</b> | <b>Taux des éosinophiles chez les rats témoins et traités</b>                               | <b>50</b> |
| <b>13a</b> | <b>Variation de la concentration du cholestérol chez les rats témoins et traités</b>        | <b>53</b> |
| <b>13b</b> | <b>Variation de la concentration des triglycérides chez les rats témoins et traités</b>     | <b>53</b> |
| <b>13c</b> | <b>Variation de la concentration des protéines totales chez les rats témoins et traités</b> | <b>54</b> |
| <b>13d</b> | <b>Variation de l'activité des ALAT chez les rats témoins et traités</b>                    | <b>54</b> |
| <b>13e</b> | <b>Variation de l'activité des ASAT chez les rats témoins et traités</b>                    | <b>55</b> |
| <b>13f</b> | <b>Variation de l'activité de PAL chez les rats témoins et traités</b>                      | <b>55</b> |
| <b>13g</b> | <b>Variation de la concentration du glucose chez les rats témoins et traités</b>            | <b>56</b> |
| <b>14a</b> | <b>Variation de l'activité de l'AChE chez les rats témoins et traités</b>                   | <b>58</b> |
| <b>14b</b> | <b>Variation de l'activité de la GST chez les rats témoins et traités</b>                   | <b>58</b> |
| <b>14c</b> | <b>Variation de la teneur en GSH chez les rats témoins et traités</b>                       | <b>59</b> |
| <b>14d</b> | <b>Variation du taux du MDA chez les rats témoins et traités</b>                            | <b>59</b> |

## **LISTE DES TABLEAUX**

| <b>N°</b> | <b>Tableau</b>   | <b>Page</b> |
|-----------|--|-------------|
| <b>01</b> | <b>Variation du poids corporel chez les rats témoins et traités</b>  | <b>35</b>   |
| <b>02</b> | <b>Variation des paramètres du labyrinthe en croix surélevé chez les rats témoins et traités</b>                 | <b>36</b>   |
| <b>03</b> | <b>Variation des paramètres du champ ouvert chez les rats témoins et traités</b>                                 | <b>40</b>   |
| <b>04</b> | <b>Variation des paramètres de la nage forcée chez les rats témoins et traités</b>                               | <b>44</b>   |
| <b>05</b> | <b>Variation des paramètres immunitaires chez les rats témoins et traités</b>                                    | <b>47</b>   |
| <b>06</b> | <b>Variation des paramètres biochimiques chez les rats témoins et traités</b>                                    | <b>52</b>   |
| <b>07</b> | <b>Variation de l'activité cholinestérasique et du stress oxydatif cérébral chez les rats témoins et traités</b> | <b>57</b>   |

## **LISTE DES SYMBOLES**

- AChE** : Acétylcholinestérase
- ACh** : Acétylcholine
- Asch** : Acétylethiocoline
- AP-1** : Activateur de la protéine-1
- ALAT** : Alanine aminotransférase
- ASAT** : Aspartate aminotransférase
- CDNB** : 1-chloro-2-4-di-nitrobenzène
- DL<sub>50</sub>** : Dose létale cinquante
- DTNB** : 5-5'dithio-bis-(2-acide nitrobenzoïque)
- EDTA** : Acide éthylène diamine tétracétique
- EOS** : Eosinophile
- EPM** : Elevated plus-maze
- F** : Fenthion
- FST** : Forced swim test
- GB** : Globule blanc
- GRAN** : Granulocyte
- GSH** : Glutathion réduit
- GST** : Glutathion-S-transférase
- HHS** : Axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien
- IP** : Intra-péritonéale
- IFN<sub>γ</sub>** : Interferon gamma

**J** : Jour

**LYM** : Lymphocyte

**M** : Mélange

**MON** : Monocyte

**MDA** : Malondialdéhyde

**NK** : Natural killer

**NF KB** : Le facteur nucléaire-kappa B

**OF** : Open field

**OP** : Organophosphoré

**PAL** : Phosphatase alcaline

**PAO** : Paraoxonase

**Per os** : Par gavage

**PHS** : fenthion phenol

**POS** : fenthoxone

**PSSO** : fenthion sulfoxyde

**PSSO<sub>2</sub>** : fenthion sulfone

**Q** : Quercétine

**R** : Resvératrol

**S.S** : Solution saline

**T** : Témoin

**TBA** : Acide thiobarbiturique

**TBARS** : Substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique

**TCA** : Acide trichloroacétique

**TNF** : Tumor necrosis factor

**μL** : Microlitre

# SOMMAIRE

|   |    |
|---|----|
| 1. INTRODUCTION   | 01 |
| 2. MATERIEL ET METHODES                                   | 09 |
| 2.1. Matériel biologique                                  | 09 |
| 2.1.1. Animaux d'élevage                                  | 09 |
| 2.1.2. Enceinte biologique                                | 09 |
| 2.2. Méthodes   | 09 |
| 2.2.1. Traitement   | 09 |
| 2.2.1.1. Fenthion   | 09 |
| 2.2.1.2. Quercétine                                       | 11 |
| 2.2.1.3. Resvératrol                                      | 12 |
| 2.2.2. Protocole expérimental                             | 14 |
| 2.2.3. Tests comportementaux                              | 15 |
| 2.2.3.1. Test du champ ouvert (OF)                        | 15 |
| 2.2.3.2. Test du labyrinthe en croix surélevé (EPM)       | 16 |
| 2.2.3.3. Test de la nage forcée (FST)                     | 17 |
| 2.2.4. Prélèvements                                       | 19 |
| 2.2.5. Profil immunitaire                                 | 19 |
| 2.2.6. Dosages  | 19 |
| 2.2.6.1. Dosage des paramètres du stress oxydant cérébral | 19 |
| 2.2.6.1.1. Glutathion réduit (GSH)                        | 19 |
| 2.2.6.1.2. Glutathion-S-Transférase (GST)                 | 20 |
| 2.2.6.1.3. Malondialdéhyde (MDA)                          | 21 |
| 2.2.6.2. Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) cérébral | 22 |
| 2.2.6.3. Protéines  | 23 |
| 2.2.6.4. Dosage des métabolites                           | 23 |
| 2.2.6.4.1. Dosage du cholestérol                          | 23 |
| 2.2.6.4.2. Dosage des triglycérides                       | 25 |
| 2.2.6.4.3. Dosage des protéines totales                   | 27 |

|  |    |
|--|----|
| 2.2.6.4.4. Mesure de la glycémie   | 28 |
| 2.2.6.5. Dosage des transaminases et de la phosphatase alcaline                              | 29 |
| 2.2.6.5.1. Dosage de l'alanine amino-transférase (ALAT/TGP)                                  | 29 |
| 2.2.6.5.2. Dosage de l'aspartate amino-transférase (ASAT/TGO)                                | 30 |
| 2.2.6.5.3. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL)   | 32 |
| 2.2.7. Analyse statistique des données   | 33 |
| 3. RESULTATS   | 35 |
| 3.1. Variation du poids corporel   | 35 |
| 3.3. Variation des paramètres comportementaux  | 36 |
| 3.3.1. Variation des paramètres du labyrinthe en croix surélevé                              | 36 |
| 3.3.2. Variation des paramètres du champ ouvert  | 39 |
| 3.3.3. Variation des paramètres de la nage forcée  | 42 |
| 3.4. Variation des paramètres immunitaires   | 46 |
| 3.5. Variation des paramètres biochimiques   | 50 |
| 3.6. Variation de l'activité cholinestérasique et du stress oxydatif cérébral                | 56 |
| 4. DISCUSSION  | 60 |
| 4.1. Effet du fenthion sur le statut cognitivo-comportemental<br>et la neurochimie cérébrale | 60 |
| 4.2. Effet du fenthion sur les paramètres biochimiques                                       | 68 |
| 4.3. Effet du fenthion sur les paramètres immunitaires                                       | 70 |
| 4.4. Effet de la quercétine  | 72 |
| 4.5. Effet du resvératrol  | 75 |
| 4.6. Effet du mélange  | 78 |
| 5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES  | 79 |
| 6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES   | 80 |

# **INTRODUCTION**

## 1. INTRODUCTION

L'utilisation massive des pesticides synthétiques, et en particulier de ceux appartenant à la famille des organochlorés, constitua entre 1945 et 1960, un énorme progrès pour l'agriculture et a permis d'assurer une production alimentaire suffisante pour une population en grande croissance. Ceci, tant et si bien que l'utilisation massive des insecticides est devenue une technique quasiment indispensable à la plupart des pratiques agricoles quelque soit le niveau de développement du pays. Leur utilisation a également contribué à l'amélioration de la santé publique en luttant contre certains insectes vecteurs de maladies (**Ramade, 2005**). Cependant, avec l'utilisation massive des premiers insecticides synthétiques (particulièrement les insecticides organochlorés) sont apparus des signes évidents de toxicité et d'effets néfastes pour l'environnement et pour l'homme (**Eriksson *et al.*, 1990; Eriksson *et al.*, 1992; Snedeker, 2001; Den Hond et Schoeters, 2006; Schoeters et Hoogenboom, 2006; Bonde *et al.*, 2008**). Afin de faire face à ces problèmes, mais également à l'apparition de souches résistantes chez les insectes, les industries chimiques ont développé d'autres familles d'insecticides dont le principe actif est différent, quoiqu'il s'agisse toujours de neurotoxiques. Ces familles sont les carbamates, les pyréthroïdes, les nicoténoïdes et les organophosphorés. Les pesticides organophosphorés (OP) représentent le groupe le plus appliqué des insecticides durant les deux dernières décennies (**Chambers, 1992; Maroni *et al.*, 2000**). Les pesticides organophosphorés sont des produits chimiques les plus toxiques et qui sont utilisés dans des applications répandues comme l'agriculture, les maisons, les jardins, les pratiques vétérinaires, la médecine et l'industrie. Des quantités résiduelles de composés organophosphorés ont été détectées dans le sol, les plans d'eau, les légumes, les céréales et d'autres produits alimentaires (**John *et al.*, 2001**). Inclus dans le groupe des composés OP, le malathion, le parathion, le fenthion, le diazinon, le diméthoate, le dichlorvos, le dimefox, le chlorpyrifos, le paraoxon, le soman, le sarin, le tabun, l'échothiophate, l'isofluorophate, le

tribufos, le merphos et le trichlorfon (**Pena-Liopis, 2001; Kwong, 2002**). Le fenthion [O, O-diméthyl-O-[3-méthyl-4-(méthyl-thio) phényl] phosphorothioate] est l'un des OP le plus utilisé largement sur un grand nombre de cultures contre les ravageurs dans plusieurs pays (**Krieger, 2001**). Il a posé un danger sur la santé des animaux et des humains en raison de sa persistance dans les sols et les cultures (**WHO, 1996**). Son utilisation a été annulée dans plusieurs pays et limitée dans beaucoup d'autres à raison de sa forte toxicité (**Virginia, 2014**). Le mécanisme d'action des OP est basé sur l'inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) (**Abu-Qare et Abou-Donia, 2001**). L'inhibition de l'AChE par les pesticides organophosphorés provoque l'accumulation de l'acétylcholine dans les synapses cholinergiques, avec une sur-stimulation des récepteurs nicotiniques et muscariniques (**Giordano et al., 2007**). En effet, les organophosphorés sont très lipophiles, franchissent aisément toutes les barrières biologiques et se fixent de façon covalente aux cholinestérases, soit les acétylcholinestérases du système nerveux central, des muscles et des globules rouges ou les pseudo-cholinestérases du système nerveux central et plasmatiques. Même si une faible quantité franchit la barrière hémato-encéphalique, elle suffit pour inhiber en quelques secondes pratiquement toute l'activité cholinestérasique (**Bismuth, 1993**). En plus de leur inhibition de l'acétylcholinestérase, ils peuvent induire le stress oxydatif qui est important dans leur toxicité (**Amirkabirian et al., 2007; Shadnia et al., 2007**). Cependant, plusieurs organes comme, le cerveau, le foie, le cœur, le pancréas (**Buyukokurog˘lu et al., 2008**) et les systèmes, comme le système immunitaire (**Neishabouri et al., 2004**), urinaire (**Rodrigo et al., 2001**) et les paramètres hématologiques et biochimiques (**Buyukokurog˘lu et al., 2008; Kalender et al., 2007; Kalender et al., 2006**) pourraient être affectés par la toxicité des organophosphorés. Les pesticides OP sont des puissants stimulants de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS) (**Osicka-Koprowska et al., 1984; Smallridge et al., 1991**) et l'exposition à ces substances peut résulter des altérations neurocomportementales persistantes

dont l'anxiété, la dépression, les déficits de mémoire à court terme, l'apprentissage, l'attention, le traitement d'information et le temps de réaction (**Richardson, 1995; Stephens et al., 1995; Amr et al., 1997; Singh et Sharma, 2000; Salvi et al., 2003**).

Les mauvaises conditions de travail et la méconnaissance des potentialités dangereuses des OP aboutissent à l'intoxication qui évoque des aspects cohérents de symptômes physiques et neuro-comportementaux tels que la dépression, l'anxiété et les troubles cognitifs (**Peña-Llopis, 2005**). Les travailleurs exposés aux pesticides ont été rapportés à manifester des symptômes physiques, des déficits neurocomportementaux et des troubles affectifs (**Reidy et al., 1992; Colosio et al., 2003**). Chez le rat, plusieurs études ont également montré que l'exposition aux organophosphorés produit des perturbations comportementales et cognitives (**Maha et al., 2013; Wen-Qiang et al., 2011**). Ces perturbations émotionnelles auraient pu survenir soit par l'inhibition de l'AChE ou par d'autres mécanismes non cholinergiques comme la perturbation des neurotransmetteurs (**Wen-Qiang et al., 2014**). D'autres études ont rapporté l'implication du stress oxydatif dans l'apparition des déficits émotionnels et comportementaux (**Maha et al., 2013**). Comme d'autres OP, le fenthion a été trouvé pour être un inhibiteur puissant du comportement du rat (**Virginia, 1995**). Néanmoins, la réactivité émotionnelle et cognitive du rat vis-à-vis de ce produit reste encore mal connue. Une évidence clinique a lié le développement des symptômes neurologiques (faiblesse musculaire, mal au dos, engourdissement, picotement des mains et des pieds et la faiblesse des muscles oculaires) chez les techniciens vétérinaires lors de leur utilisation du fenthion contre la puce du chien (**Niosh, 1984; Metcalf et al., 1985**). Dans les pays du tiers monde, l'utilisation du fenthion dans les programmes anti-malaria a été associée à l'apparition des déficits neurocognitifs chez les travailleurs tels que la dépression, l'apathie, la perturbation de la mémoire et les désordres psychiatriques (**Nioshi, 1976; Misra et al., 1985**).

En raison de son caractère lipophile, il peut être absorbé par le tractus gastro-intestinal et des voies respiratoires et confère une distribution préférentielle dans les tissus internes riches en lipides, y compris la graisse du corps, la peau, les poumons, les systèmes nerveux central et périphérique, du rein et du foie (**Gallo et Lawryk, 1995**). Ce dernier est le principal organe de détoxification où la plupart des réactions du métabolisme ont lieu (**Millward-Sadler, 1987**). En raison de son rôle dans la transformation des xénobiotiques environnementaux, le foie est à grand risque de blessures, lorsque les concentrations intracellulaires élevées de ces composés, comme le fenthion, peuvent être atteintes (**Davies et Portmann, 1987; Furnes et Schlenk, 2005**). Ces effets toxiques surviennent probablement grâce à la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) causant des dommages aux différentes composantes membranaires des cellules. Les ROS avaient été impliquées dans diverses pathologies telles que les maladies cardio-vasculaires, pulmonaires et auto-immunes, maladies métaboliques héréditaires, le cancer et le vieillissement (**Halliwell et Gutteridge, 1999**).

L'immunotoxicité des OP a été rapportée chez l'homme et l'animal (**Alluwaimi et al., 2001; Abd-Elnassaer, 1995; Barnett et al., 1980**). Chez les mammifères, elle pourrait être directe ou indirecte et elle est généralement associée à l'auto-immunité, une allergie et / ou une immunosuppression (**Stiller-Winkler et al., 1999; Galloway et Handy, 2003**). Les grands aspects des effets directs létaux des OP incluent l'inhibition des hydrolases de la sérine non-cibles, comme le complément et le système de la thrombine (**Stiller-Winkler et al., 1999; Nigg et Knaak, 2000**), comme l'inhibition des estérases dans la membrane des lymphocytes (**Stepanovic et al., 1998**), les dommages oxydatifs aux organes immunitaires (**Handy et al., 2002**) et la modulation de la transduction de signal par l'intermédiaire de l'inhibition de la voie sérine hydrolyse (**Coffey et Hadden, 1985**), ce qui interfère avec la prolifération des cellules immunitaires et leur différenciation. D'autre part, la toxicité

indirecte de pesticides organophosphorés survient via la modulation du système nerveux par l'inhibition irréversible de l'acétylcholinestérase en raison de la formation du dérivé enzyme qui masque la sérine du site actif nucléophile (**Bajgar, 2004**) et la dépression immunitaire due à la malnutrition comme conséquence d'interférence avec le métabolisme (**Ceron et al., 1996**).

Intéressamment, plusieurs travaux ont rapporté les potentialités thérapeutiques des produits naturels comme les flavonoïdes et les stilbènes contre la toxicité des xénobiotiques (**Gokce Uzun et Kalender, 2013; Zhang et al., 2013**). Les flavonoïdes sont des composés dérivés de plantes montrant plusieurs activités biologiques, y compris les propriétés antioxydantes (**Cao et al., 1997; Williams et al., 2004**). Parmi lesquels, La quercétine, la plus utilisée dans les études expérimentales (**Pu et al., 2007**). La quercétine (3,5,7,3', 4'-pentahydroxyflavone) est une molécule de flavonols polyphénoliques qui se produit dans de nombreux fruits et légumes comme les oignons, les pommes, les baies, les arachides, le soja, les pommes de terre, le brocoli, les raisins, les agrumes et le thé (**Herrmann, 1976; Scalbert et Williamson, 2000**). Comme elle est largement présente dans l'alimentation humaine, environ 1g/jour de consommation moyenne de quercétine a été rapporté (**Manach et al., 2005**), ce qui représente 60 à 75% de polyphénols par ingestion globale (**Goldberg et al., 1995; Sampson et al., 2002**). La quercétine piège efficacement les radicaux libres, inhibe les enzymes génératrices des espèces réactives oxygénées et prévient les blessures neuronales (**Ansari et al., 2009; Heo et Lee, 2004**). Avec cette propriété antioxydante puissante, la quercétine a été trouvée pour exercer un effet anxiolytique (**Aguirre-Hernandez et al., 2010**). La relation entre le potentiel antioxydant et les capacités anxiolytiques de la quercétine est renforcée par plusieurs éléments de preuve montrant que les antioxydants alimentaires peuvent améliorer les fonctions cognitives et prévenir les troubles neurocomportementaux induits par un tel stress émotionnel ou chimique (**Chakraborti et al., 2007; Toumi et al.,**

2013 ; Merzoug *et al.*,2014 ; Abdallah *et al.*, 2014 ). Par ailleurs, la quercétine a été signalée en tant qu'agent immunostimulant. Elle favorise l'activation lymphocytaire, la sécrétion de l'interféron  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) (Akabay *et al.*, 2003), la stimulation des macrophages (Oršolić et Bašić, 2005) et des cellules tueuses naturelles (cellules NK) (Yu *et al.*, 2010). La quercétine peut protéger les leucocytes humains du stress oxydant en piégeant directement les radicaux hydroxyles (Wilms *et al.*, 2008). D'autres investigations ont aussi mentionné la capacité de la quercétine à inhiber la production des cytokines pro-inflammatoires (Cho *et al.*, 2003; Min *et al.*, 2007) à travers l'inhibition des voies neuroendocrines impliquées dans la réponse au stress (Schroeter *et al.*, 2002; Spencer, 2007).

Le resvératrol, une molécule stilbénoloïde phytoalexine naturelle dotée d'importantes opportunités thérapeutiques. Les phytoalexines sont un groupe de composés phytochimiques de faible poids moléculaire qui sont inhibitrices pour les microorganismes et dont l'accumulation dans les plantes est initiée par l'interaction de la plante avec des microorganismes (Bavaresco, 2003). La formation du resvératrol dans des feuilles de la vigne a été corrélée avec la résistance aux maladies à savoir que le resvératrol est produit par la plante pour se défendre contre les champignons et d'autres attaques (Soleas *et al.*, 1997). La quantité du resvératrol représente de 5 à 10 % de la biomasse de la peau du raisin, et ses concentrations mesurées dans un échantillon de variétés de vin rouge varient de 2 à 40 mM (Stewart *et al.*, 2003). Le resvératrol a été isolé à partir des racines d'ellébore blanc (*Veratrum grandiflorum*) en 1940, et plus tard, en 1963, à partir des racines de *Polygonum cuspidatum* (Siemann et Creasy, 1992), une plante utilisée en médecine traditionnelle chinoise et japonaise pour le traitement des champignons humains, les hypertendus, les allergiques et les maladies inflammatoires et lipidiques (Juan *et al.*, 2002). Les propriétés protectrices du resvératrol observées *in vitro* et *in vivo* et son accumulation dans le vin rouge avait conduit la

communauté scientifique à considérer que telle est la substance compétente pour le paradoxe français: le phénomène dont la consommation fréquente du vin rouge en France est associée à une réduction de la mortalité due aux maladies cardiaques et le cancer par rapport aux autres pays européens (**Renaud et De Lorgeril., 2003**). En outre, le resvératrol a été rapporté pour provoquer beaucoup de réponses cellulaires, y compris l'arrêt du cycle cellulaire, la différenciation et l'apoptose (**Joe et al., 2002**) et des propriétés anti-inflammatoires, anti-leucémiques, antivirales, antioxydantes et neuroprotectrices (**Bhat et al., 2001; Virgili et Contestabile, 2000; Gao et al., 2002; Yazir et al., 2015**). Le resvératrol exerce un effet anti-oxydant puissant et piège efficacement les radicaux libres (**Das et al., 1999; Atmaca N et al., 2014; Türedi et al., 2015**) et réduit le risque de développer une maladie coronarienne, probablement par la modulation du métabolisme des lipides et à la prévention de la faible densité de l'oxydation des lipoprotéines (**Frankel et al., 1993**) ainsi que l'inhibition de la production des éicosanoïdes et l'agrégation plaquettaire (**Pace-Asciak et al., 1995**). En plus de ces actions bénéfiques, le resvératrol a été noté pour ses activités anti-inflammatoires. Il peut atténuer l'activation des cellules immunitaires, la synthèse et la libération de médiateurs pro-inflammatoires ultérieures par l'inhibition des facteurs de transcription tels que le facteur nucléaire-kappa B (NF-kB) et activateur de la protéine-1 (AP-1) (**Das S et Das DK, 2007**).

Dans la lumière de ces constatations, nous avons élaboré un travail expérimental qui vise à investiguer la neurotoxicité relative au fenthion chez les rats mâles wistar soit, sur le plan neurocomportemental, par l'utilisation des tests comportementaux valides, soit sur le plan neurochimique par la mesure de l'activité cholinestérasique et le statut oxydatif cérébral. Bien entendu, et comme il y a un lien étroit entre la perturbation d'autres voies physiologiques et l'exacerbation de la neurotoxicité (**Chen, 2012; Lopresti et al., 2014**), la variation de certains

paramètres hémato-biochimiques a été étudiée. Finalement, la capacité de la quercétine et du resvératrol ainsi que leur mélange à moduler la neurotoxicité a été testée.

# **MATERIEL ET METHODES**

## 2. MATERIEL ET METHODES

### 2.1. Matériel biologique

#### 2.1.1. Animaux d'élevage

Le matériel biologique de base que nous avons choisi est le rat blanc mâle *Rattus rattus* de la souche Wistar, provenant de l'institut Pasteur d'Alger. Ces rats sont des mammifères nocturnes de l'ordre des rongeurs. Leur puberté survient entre 50 et 60 jours après la naissance chez les deux sexes, la descente des testicules se produit bien avant la puberté, habituellement autour de l'âge de sevrage. Un rat en bonne santé peut vivre de 2 ½ à 3 ans dépendant de la souche, du sexe, des conditions environnementales et d'autres variables (Baker *et al.*, 1980; Suter *et al.*, 1979). Á leur arrivée, ces rats pesaient entre 190 et 200 grammes, et au début de l'expérimentation, ils pesaient en moyenne  $250 \pm 10$  grammes.

#### 2.1.2. Enceinte biologique

Les animaux sont élevés dans des cages en polyéthylène, celles-ci sont tapissées d'une litière composée de copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées et la litière changée une fois tous les deux jours. Les rats sont acclimatés aux conditions de l'animalerie, à une température de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , une hygrométrie de 50%. La nourriture apportée aux animaux est confectionnée sous forme de bâtonnets constitués de maïs, d'orge, de lait et de compléments vitaminés. Quant à l'eau de boisson, elle est présentée dans des biberons *ad libitum*.

### 2.2. Méthodes

#### 2.2.1. Traitements

##### 2.2.1.1. Fenthion

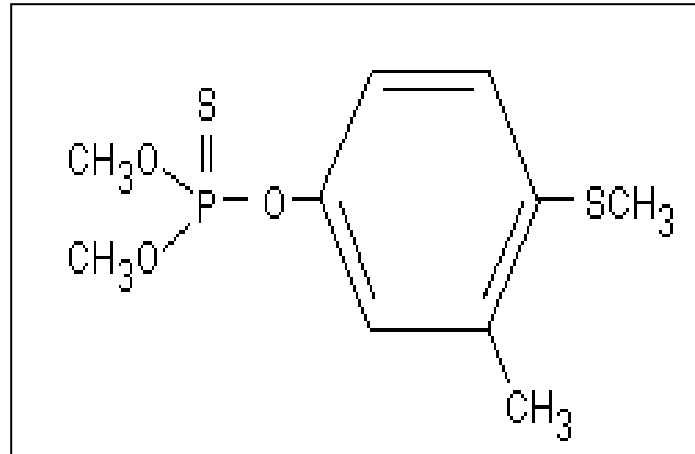
Le fenthion [O,O-diméthyl-O-[3-méthyl-4-(méthyl-thio) phényl] phosphorothioate] (Figure 01) est l'un des OP le plus utilisé largement sur un grand nombre de cultures contre

les ravageurs dans plusieurs pays (**Krieger, 2001**). Les aspects de l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination du fenthion administré sont globalement comparables entre les rats, les cochons, les vaches et les chèvres. L'absorption est rapide après une voie d'exposition, la distribution est vaste en particulier dans les réserves lipidiques, le métabolisme est vaste et peut générer des intermédiaires anti-AChE actifs. Le métabolisme du fenthion commence généralement avec la désulfuration de la partie ester-thiophosphorique du fenthion (PS) pour donner l'analogue phosphoxone d'oxygène (fenthoxone; POS). Les deux, fenthion et fenthoxone, peuvent être oxydés en sulfoxydes (PSSO, CEO) et sulfones (PSSO<sub>2</sub>, POSO<sub>2</sub>) par oxydation de l'anneau du groupe -SCH<sub>3</sub>. D'autres métabolites peuvent être formés par la déméthylation de l'un des deux groupes d'oxyméthyle. L'hydrolyse de la liaison de PO conduit à la perte du groupement PO et donne lieu à un fenthion "phénol" (PHS), qui peut également être oxydé en sulfoxyde (PhSO) et un sulfone (PhSO<sub>2</sub>). La forme analogue d'oxygène du fenthion et ses sulfoxyde et sulfone dérivés sont généralement considérés comme les principaux métabolites actifs, plutôt que le fenthion lui-même.

En général, les signes d'intoxication aiguë chez les animaux par le fenthion étaient compatibles avec l'inhibition de l'AChE et notamment l'inactivité, la salivation, les fasciculations musculaires, la dyspnée, la paralysie, des vomissements, l'horripilation, l'exophtalmie et de la diarrhée (**OCS, 2008**).

La DL<sub>50</sub> du fenthion pour les rats mâles par voie intrapéritonéale correspond à 152mg/kg selon (**Kimmerle, 1963**) et 90mg/kg selon (**Robert, 1974**). Cependant, les rats mâles sont plus sensibles au fenthion que les femelles. L'administration du fenthion à raison de 20mg/kg

par i.p. développe l'apparition des mortalités à partir du 11<sup>ème</sup> jour du traitement et le taux arrive à 80% au 18<sup>ème</sup> jour.



**Figure 01. Structure du fenthion (WHO, 2004)**

#### 2.2.1.2. Quercétine

La quercétine est un flavonoïde antioxydant naturel appartenant à la famille de biflavonoïdes (Figure 02). Elle se trouve dans les fruits et les légumes (les pommes, les oignons, les brocolis et le thé). La quercétine est utilisée dans le traitement du cancer de la prostate, intervenant dans le blocage de la sécrétion des histamines dans le corps (antihistaminique naturel), la protection contre le développement des inflammations, les radicaux libres et la dégénérescence musculaire. Elle réduit les risques des maladies cardiaques par la prévention contre l'accumulation des macrophages dans les artères. Elle ne peut être synthétisée par l'organisme, qui doit donc l'apporter de l'extérieur (Milane, 2004).

L'absorption intestinale et le métabolisme de la quercétine et d'autres flavonoïdes diététiques ne sont pas bien élucidés à l'heure actuelle de sorte que les évènements dans le tractus intestinal doivent être clarifiés afin de comprendre les effets potentiels sur la santé de ces composants alimentaires non nutritifs (Terao *et al.*, 1999). Ainsi, l'évaluation de l'ampleur de l'absorption intestinale et le métabolisme des glycosides de la quercétine est essentielle pour évaluer sa fonction physiologique. Les glycosides flavonoïdes du régime sont censés passer à travers l'intestin grêle et entrer dans le caecum et le côlon, où ils sont hydrolysés par des entérobactéries à aglycone (Bokkenheuser *et al.*, 1987).

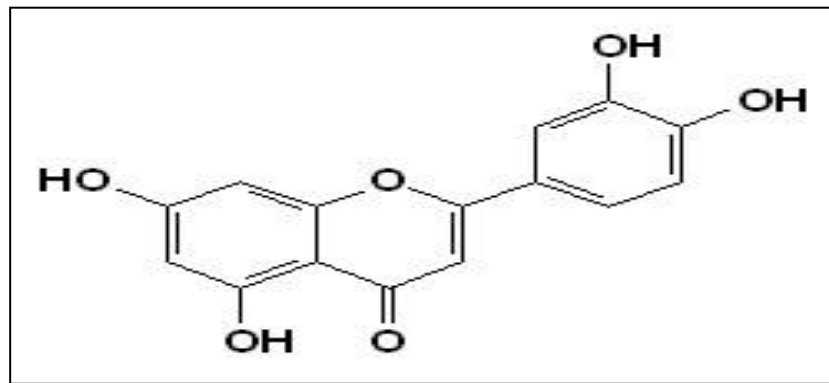


Figure 02. Structure de la quercétine (Milane, 2004)

### 2.2.1.3. Resvératrol

Le resvératrol (3,5,4'-trihydroxystilbène) est un polyphénolique non-flavonoïde (Figure 03), composé abondant dans le raisin, les arachides et autres aliments qui sont généralement consommés dans le cadre de l'alimentation humaine. Le composé a d'abord été isolé à partir de la racine de *Polygonum cuspidatum*, une plante utilisée en médecine traditionnelle chinoise et japonaise (Vastano *et al.*, 2000). Les polyphénols s'accumulent dans les plantes en réponse à des facteurs de stress exogènes tels que les blessures, les infections fongiques ou

l'irradiation UV (**Dixon et Paiva, 1992**). Les êtres humains ont été exposés aux polyphénols alimentaires pendant des millions d'années et ont développé une tolérance à ce groupe de composés de la défense des plantes (**Halls et Yu, 2008; Manach et al., 2005**).

À partir des années 1990 et continue à ce jour, des études scientifiques ont rapporté que le resvératrol a une large gamme d'actions biologiques souhaitables, y compris la radioprotection (**Das S et Das DK, 2007; Hung et al., 2004**), la prévention du cancer (**Jang et al., 1997**) et la prolongation de la durée de vie de plusieurs espèces (**Howitz et al., 2003; Valenzano et al., 2006**). Les propriétés biologiques du resvératrol sont attribuées à sa capacité à inhiber l'oxydation des lipoprotéines de basse densité humaine, tandis que la suppression des activités de la synthèse de l'oxyde nitrique inducible de la cyclo-oxygénase-2 et contribuent également à ses effets anti-inflammatoires et anti-oxydantes (**Baur et Sinclair, 2006; King et al., 2005**).

Le métabolisme intestinal du resvératrol *in vivo* a été décrit pour la première fois dans des modèles de rongeurs par l'équipe de Bertelli (**Bertelli et al., 1996 ; Bertelli et al., 1998**). Les auteurs ont mesuré l'absorption du resvératrol chez le rat par administration du vin rouge avec une teneur en resvératrol. Le resvératrol a été rapidement absorbé, atteignant son pic de concentration approximativement 60 min après ingestion du vin, avec des concentrations de resvératrol initiales trouvées après 30 min. D'autres enquêtes ont confirmé l'absorption rapide du resvératrol devenant détectable dès 15 min après l'administration et atteignant des concentrations maximales après 30 min (**Soleas et al., 2001; Yu et al., 2002**).

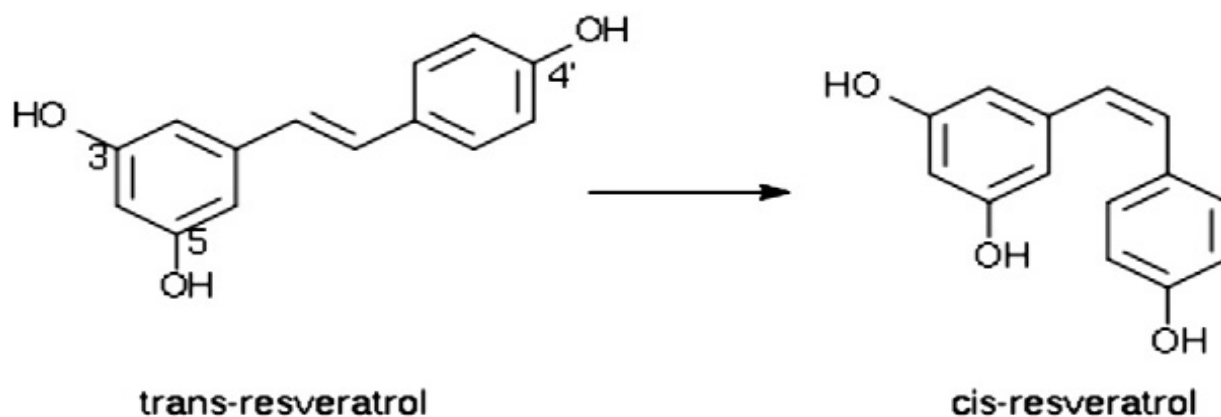


Figure 03. Structure du resvératrol (Bhat *et al.*, 2001)

### 2.2.2. Protocole expérimental

Nous avons travaillé sur 56 rats mâles wistar adultes divisés en 08 lots chacun de 07 rats (Figure 07).

Lot Témoin (**T**) : recevait l'huile de maïs 30min avant la solution saline (NaCl ; 0.9%) pendant dix jours consécutifs.

Lot Quercétine (**Q**) : recevait la quercétine (Sigma Aldrich) oralement par gavage à raison de 60 mg/kg de poids corporel, dissoute dans l'huile de maïs (1ml/kg) pendant dix jours consécutifs.

Lot resvératrol (**R**) : recevait le resvératrol (Nutrixeal) oralement par gavage à raison de 30 mg/kg de poids corporel dissout dans l'huile de maïs (1ml/kg) pendant dix jours consécutifs.

Lot Fenthion (**F**) : recevait le fenthion (Bayer) par voie intrapéritonéale à raison de 20 mg/kg de poids corporel dissout dans la solution saline (1ml/kg) pendant dix jours consécutifs.

Lot Quercétine + Fenthion (**Q+F**) : recevait la quercétine 30 min avant le fenthion

Lot Resvératrol + Fenthion (**R+F**) : recevait le resvératrol 30 min avant le fenthion

Lot Quercétine + Resvératrol (**M**) : recevait la quercétine mélangé au resvératrol oralement

Lot Quercétine + Resvératrol + Fenthion (**M+F**) : recevait le mélange 30 min avant le fenthion.

Avant de commencer le protocole, les rats de chaque lot recevaient leur véhicule pendant trois jours pour habituer les rats aux voies d'administration selon **Liu et al., (2014)**. Le choix de la dose de la quercétine, du resvératrol a été respectivement basé sur l'étude de **Ying et al., (2012)** et **Ahmed et al., (2014)**. Le choix de La dose du fenthion a été basé sur l'étude de **Virginia (1995)**, ou une seule dose de 20mg/kg administrée par voie orale chez les rat mâles adultes inhibait le comportement locomoteur et l'étude de **Kerem et al., (2007)** ou une seule dose de 25mg/kg par voie i.p montre des effets hépato-néphrotoxiques. L'effet synergique entre la quercétine et le resvératrol nous a encouragés à investiguer le mélange de ces deux polyphénols (**Chan et al., 2000**).

Au cours de l'expérimentation, les rats ont été pesés à l'aide d'une balance GIBERTINI EU-C 1200. 24 heures après l'arrêt du traitement de dix jours, les rats subissaient des tests comportementaux : Test du champ ouvert, le labyrinthe en croix surélevé et le test de la nage forcée. 24h après le test de la nage forcée, les rats ont été décapités par sacrifice.

### **2.2.3. Tests comportementaux**

#### **2.2.3.1. Test du champ ouvert (Open field; OF)**

Le test de l'OF, initialement décrit par **Hall (1934)**, a été développé dans le but de mesurer des différences de réactivités émotionnelles chez les rongeurs. L'OF permet donc d'évaluer les comportements ambulatoires ainsi que la néophobie environnementale des rats. Brièvement, l'OF est une unité en plexiglas (70 cm × 70 cm × 40 cm) dont le plancher est divisé en zones centrale et périphérique (Figure 04). Chaque rat est placé individuellement au centre du

compartiment et laissé pendant 5 min d'exploration (Sáenz *et al.*, 2006). Un animal anxieux aura tendance à préférer la zone périphérique tout en évitant l'entrée dans la zone centrale. Chaque session est filmée, La distance parcourue, Le nombre de redressements, Le temps passé dans la zone centrale et périphérique sont mesurés. Le dispositif est essuyé après chaque session avec une solution alcoolique pour palier aux effets polarisants dus aux odeurs laissées par le rat précédent.

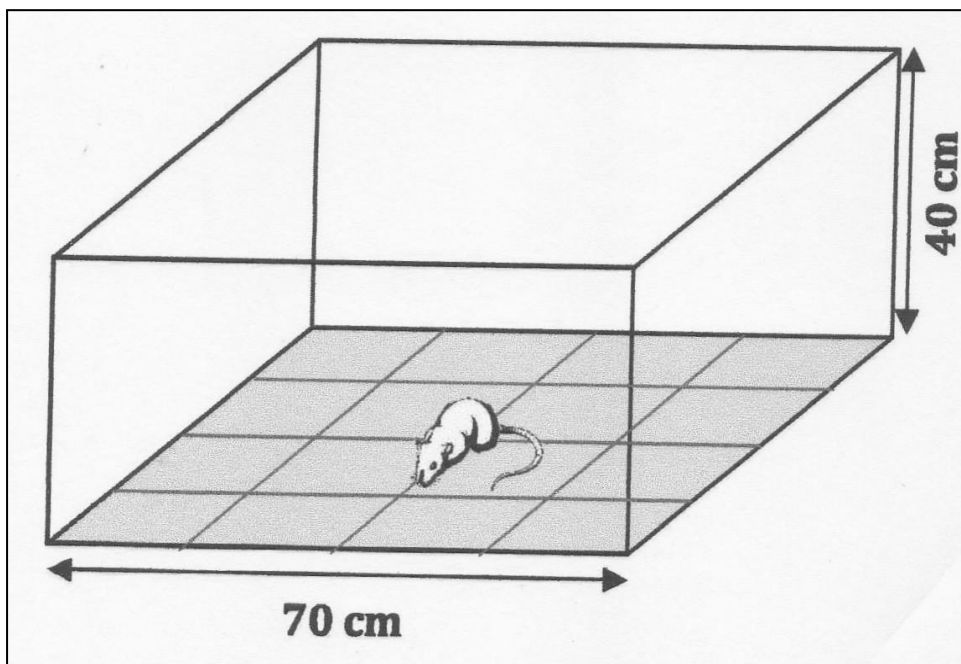
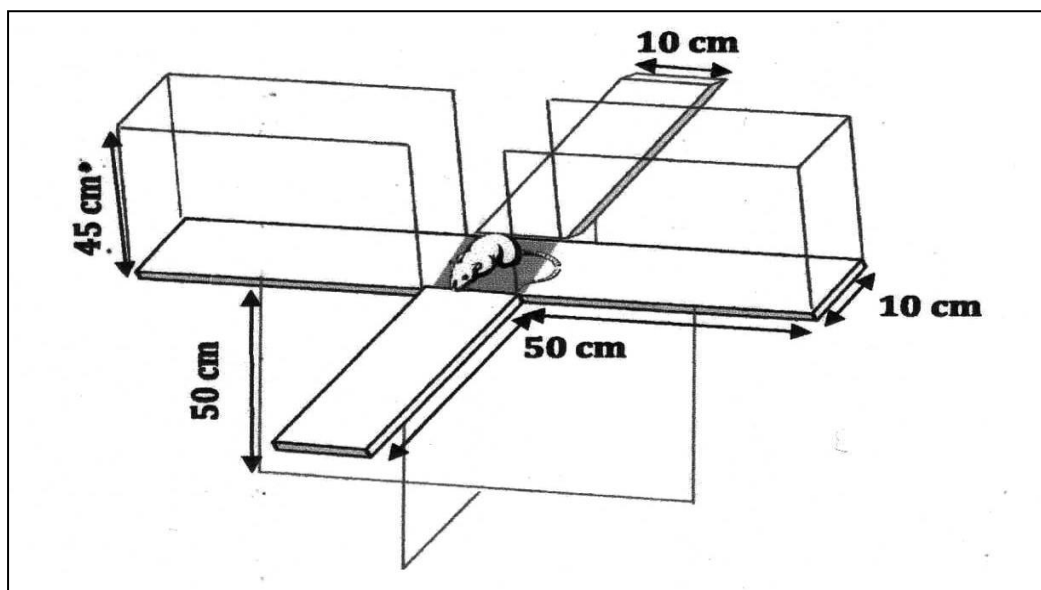


Figure 04. Illustration schématique du champ ouvert (Hall, 1934).

#### 2.2.3.2. Test de labyrinthe en croix surélevé (Elevated plus-maze; EPM)

L'EPM est un test largement étudié pour mettre en évidence les propriétés anxiolytiques ou anxiogènes des composés pharmacologiques. Le dispositif consiste en un labyrinthe surélevé ayant la forme d'une croix avec deux bras ouverts ( $50 \times 10$ cm) et deux bras fermés ( $50 \times 10 \times 45$  cm). L'appareil se situe à une hauteur de 50 cm au dessus du sol (Patin *et al.*, 2005). Chaque rat est placé individuellement au centre de l'EPM dirigé vers un des bras

ouverts et son comportement en exploration libre est enregistré et examiné pendant 5 min. Une visite était comptabilisée lorsque le rat avait les quatre pattes dans un bras (Figure 05). Le temps passé et le nombre d'entrée dans les bras ouverts et fermés sont mesurés. L'expérience exploite le conflit, chez les rongeurs, entre la peur des espaces ouverts et le désir d'explorer un nouvel environnement. Les bras fermés représentent une sécurité, alors que les bras ouverts offrent une valeur exploratoire. Un animal anxieux aura naturellement tendance à préférer les espaces clos et sombres par rapport aux espaces ouverts et éclairés. Ainsi, l'anxiété comportementale est mesurée par le degré d'évitement des espaces ouverts du labyrinthe. A la fin de chaque session, l'animal est retourné à sa cage et le dispositif est essuyé avec une solution alcoolique.



**Figure 05. Illustration schématique du labyrinthe en croix surélevé (Handley et Mithami, 1984).**

### 2.2.3.3. Test de la nage forcée (Forced swim test; FST)

La nage forcée est un test largement répandu permettant d'une part d'induire un état de désespoir chez les rongeurs et d'autre part d'étudier la capacité antidépressive des agents

pharmacologiques (Porsolt *et al.*, 1978). Le dispositif de ce test consiste en un aquarium (54 × 34 × 60 cm) rempli d'eau à une hauteur de 40 cm et maintenue à 24±1°C (Molina-Hernández *et al.*, 2004) (Figure 06). A cette hauteur, le rat ne pourra pas se servir de ses membres inférieurs pour se maintenir à la surface et sera donc soumis à une nage forcée. Les rats de chaque groupe ont été placés individuellement dans l'aquarium pendant 15 min (pré-test) et 24h après ils sont replacés dans ce dispositif pendant 5 min (test). A la fin de chaque session, les animaux sont retirés, séchés et réchauffés avant de regagner leur cage habituelle et l'eau de l'aquarium est renouvelée. Les temps d'immobilité, de nage et d'escalade sont mesurés. Les animaux sont considérés immobiles lorsqu'ils flottent dans une position horizontale et ne réalisent que de petits mouvements visant à garder leur tête au dessus du niveau de l'eau afin d'éviter la noyade.

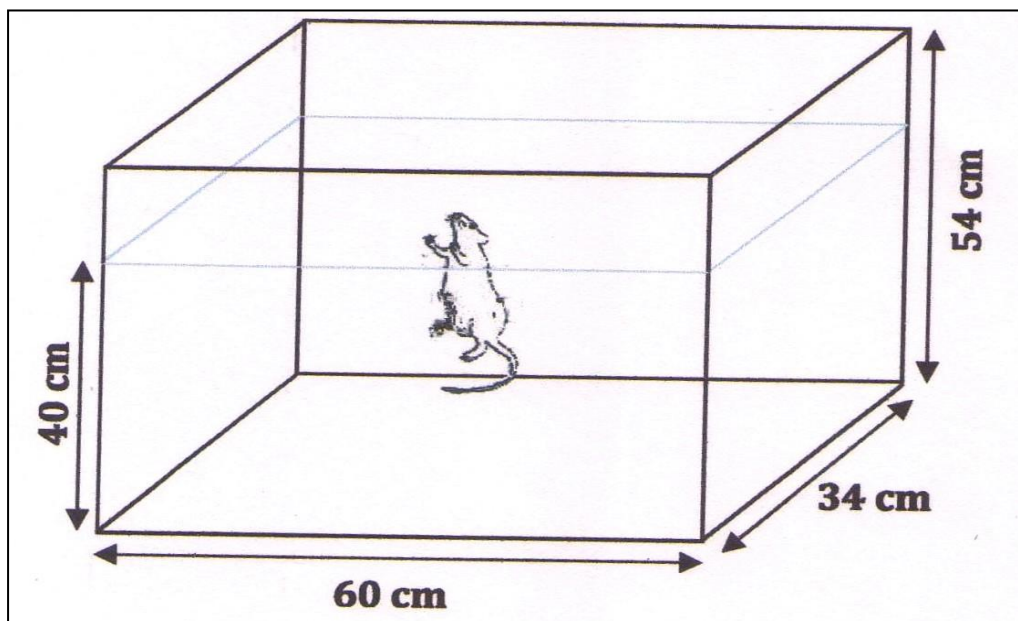


Figure 06. Illustration schématique du test de la nage forcée (Porsolt *et al.*, 1978).

#### **2.2.4. Prélèvements**

Les rats ont été décapités 24h après le test de la nage forcée. Le sang a été recueilli dans des tubes contenant l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) pour la quantification des cellules immunitaires et des tubes héparinés. Le sang des tubes héparinés est centrifugé à 5000 tours/minute pendant 15 minutes. Le plasma obtenu est aliquoté dans des tubes eppendorf puis conservé au congélateur à une température de - 20°C pour le dosage des paramètres biochimiques (métabolites, transaminases et phosphatase alcaline). Des gouttes sanguines servent à mesurer la glycémie par le glucomètre (Accu-Check, Germany). Le cerveau a été rapidement disséqué, pesé puis une fraction (500mg) homogénéisé dans 4ml du tampon phosphate (0,1 mol/l; pH=6,4) pour le dosage de l'activité de l'AChE, la GST et le taux de GSH. Une autre fraction de cerveau (500mg) est homogénéisé dans 4 ml du tampon (Tris/HCL 50mM ; pH=7.5) pour le dosage du MDA. Les homogénats obtenus ont été centrifugés à 10000 ×g (4°C) pendant 15 min et les surnageants serviront aux dosages des protéines totales et les paramètres du stress oxydatif.

#### **2.2.5. Profil immunitaire**

Les paramètres immunitaires (GB- globules blancs, LYM- Lymphocytes, MONO- Monocytes, EOS- Eosinophiles, NEUT-Neutrophiles) ont été mesurés à l'aide d'un automate d'hématologie (PCE-210 model 2009 ; Japan).

#### **2.2.6. Dosages**

##### **2.2.6.1. Dosage des paramètres du stress oxydant cérébral**

###### **2.2.6.1.1. Glutathion réduit (GSH)**

Le dosage du glutathion réduit (GSH) a été effectué selon la méthode d'**Ellman (1959)**. 1 ml de surnageant a été précipité avec 1,0 ml d'acide sulfosalicylique (4%) puis incubé à 4°C

pendant 1 heure. La solution est ensuite centrifugée à 1200 ×g pendant 15 min à 4°C. 1,0 ml de surnageant a été ajouté à 2,7 ml de tampon phosphate (0,1M ; pH 8,0) et 0,2 ml de DTNB (5-5'dithio-bis-(2-acide nitrobenzoïque). L'absorption optique a été obtenue à l'aide d'un spectrophotomètre UV à 412nm. Le calcul de la concentration de GSH est été exprimé en nanomoles par milligramme de protéines selon la formule suivante :

$$\text{GSH} = \frac{\text{DO} \times \text{L} \times 1.525}{13100 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg protéines}}$$

DO : Densité optique ;

L : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation ;

1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant

13100 : Coefficient d'absorbance du groupement –SH à 412 nm ;

0.8 : Volume de l'homogénat ;

0.5 : Volume du surnageant.

#### 2.2.6.1.2. Glutathion-S-Transférase (GST)

L'activité de la glutathion-S-transférase (GST) a été estimée selon la méthode d'**Habig et al. (1974)**. Brièvement, la mesure de l'activité GST consiste à fournir à l'enzyme un substrat; 20 µl du surnageant ajouté au 50 µl de CDNB (1-chloro-2-4-di-nitrobenzène ;0.02 M) et 830 µl de Tampon phosphate (PBS) (0.1 M, pH 7.4) en présence de 100 µl glutathion (0.1 M). La réaction de conjugaison entre le glutathion et le CDNB entraîne la formation d'une molécule nouvelle qui absorbe la lumière à 340 nm de longueur d'onde. L'activité de la

GST exprimée en nanomoles par minute par milligramme de protéines selon la formule suivante :

$$\text{GST} = \frac{\Delta \text{ DO échantillon} - \Delta \text{ DO Blanc}}{\varepsilon \times L \times \text{mg protéines}}$$

$\Delta \text{ DO échantillon} - \Delta \text{ DO blanc}$  : moyenne des DO des échantillons par minute – moyenne des DO des Blancs par minute ;

$\varepsilon$  : Coefficient d'extinction moléculaire du C-DNB,  $\varepsilon_{\text{C-DNB}} = 9.6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  ;

L : Trajet optique de la cuve = 1cm.

#### 2.2.6.1.3. Malondialdéhyde (MDA)

La peroxydation lipidique a été évaluée par la mesure des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique (TBARS) dont le malondialdéhyde (MDA) (**Draper et Hadley, 1990**). 2,5 ml d'acide trichloroacétique (TCA, 10%) ont été ajoutés à 0,5 ml de surnageant et mis dans un bain marie à 100°C pendant 15 min. Après refroidissement dans un bain froid, le mélange a été centrifugé à 1000  $\times g$  pendant 10 min, et 2,0 ml de surnageant ont été ajoutés à 1,0 ml d'acide thiobarbiturique (TBA, 0,67%) et mis dans un bain marie à 100°C pendant 15 min. Un refroidissement dans un bain froid a été effectué puis l'absorbance a été mesurée à 532 nm. La concentration du MDA a été calculée en utilisant le coefficient d'extinction du complexe MDA-TBA ( $156 \text{ cm}^{-1} \text{ mM}^{-1}$ ) et exprimée en nanomoles par milligrammes protéines selon la formule suivante :

$$\text{MDA} = \frac{\text{DO}/156 \times \text{Volume totale de la cuve} / \text{Volume de la prise d'essai}}{\text{Mg de protéines}}$$

DO : Densité optique obtenue à 532 nm

$156 \text{ cm}^{-1} \text{ mM}^{-1}$  : coefficient d'extinction molaire du TBA

Volume totale de la cuve : 1ml

Volume de la prise d'essai : 0.5ml

### 2.2.6.2. Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) cérébral

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

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

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

0.779 = Longueur en cm du puits ;

### 2.2.6.3. Protéines

La quantité des protéines dans les surnageants a été déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)** en utilisant l'albumine bovine sérique (BSA) comme standard. Brièvement, 0.1 ml de l'homogénat est ajouté au 5 ml de bleu de Coomassie comme réactif, le mélange est agité puis laissé à température ambiante pendant 5 min pour la stabilisation de la couleur. Finalement, on mesure l'absorbance de l'échantillon à 595nm contre le blanc contenant l'eau distillée à la place de l'homogénat. La densité optique obtenue est rapportée sur la courbe d'étalonnage (0 → 1 mg/ml de BSA) préalablement réalisée dans les mêmes conditions.

### 2.2.6.4. Dosage des métabolites

**2.2.6.4.1. Dosage du cholestérol** : selon la fiche technique *Biomaghreb (Fasce, 1982 ; Richmond, 1973 ; Trinder, 1969)*.

#### 1- Principe :

Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe coloré selon les réactions ci-dessous :



**2- Réactifs :**

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

**3- Réactif de travail:** dissoudre le contenu de réactif 2 dans le flacon de réactif 1 et mélanger légèrement.

**4- Echantillon :** Plasma.

**5- Mode opératoire :**

|                                | <b>Blanc</b> | <b>Etalon</b> | <b>Echantillon</b> |
|--------------------------------|--------------|---------------|--------------------|
| <b>Réactif de travail (ml)</b> | 1.0          | 1.0           | 1.0                |
| <b>Etalon (µl)</b>             | --           | 10            | --                 |
| <b>Echantillon (µl)</b>        | --           | --            | 10                 |

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

**6- Calcul de la concentration :**

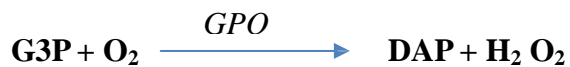
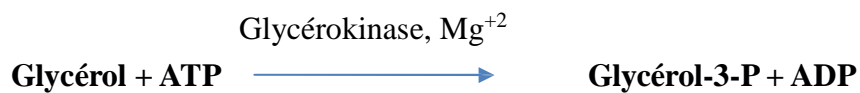
$$\text{Cholestérol (g/l)} = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times 2 \text{ g/l}$$

A: Densité optique

**2.2.6.4.2. Dosage des triglycérides :** selon la fiche technique *Biomaghreb* (Fossati, 1982 ;Young, 1975).

**Principe :**

Détermination enzymatique des triglycérides suivant les réactions :



**1- Réactifs :**

|                    |                                  |            |
|--------------------|----------------------------------|------------|
| <b>Réactif 1 :</b> | Tampon pipes pH 7.2              | 50 mmol/l  |
| Tampon             | Chloro-4-phénol                  | 2 mmol/l   |
| <b>Réactif 2 :</b> | Lipoprotein lipase ( LPL)        | 150000 U/L |
| Enzymes            | Glycerolkinase ( GK)             | 800 U/L    |
|                    | Glycerol-3- P-oxidasas ( GPO)    | 4000U/L    |
|                    | Peroxydase ( POD)                | 440U/L     |
|                    | 4-Aminophénazone ( 4-AP)         | 0.1 mmol/l |
|                    | ATP                              | 0.3 mmol/l |
| Etalon             | Triglycérides aqueous (standard) | 2g/l       |

**2- Réactifs:** dissoudre le contenu de réactif 2 dans le flacon de réactif 1 et mélanger légèrement.

**3- Echantillon :** Plasma.

**4- Mode opératoire :**

|                                | Blanc | Etalon | Echantillon |
|--------------------------------|-------|--------|-------------|
| <b>Réactif de travail (ml)</b> | 1.0   | 1.0    | 1.0         |
| <b>Etalon (µl)</b>             | --    | 10     | --          |
| <b>Echantillon (µl)</b>        | --    | --     | 10          |

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

**5- Calcul de la concentration :**

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

**2.2.6.4.3- Dosage des protéines totales : selon la fiche technique *Spinreact*. (Burtis et al., 1999)****1- Principe :**

Les protéines forment un complexe coloré en bleu violet intensif avec les ions de cuivre dans un milieu alcalin. L'iode est inclus comme un antioxydant.

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration des protéines totales dans l'échantillon.

**2- Réactifs :**

|                    |                           |             |
|--------------------|---------------------------|-------------|
| <b>Réactif 1 :</b> | Sodium potassium tartrate | 15 mmol/l.  |
| Biuret             | Sodium iodique            | 100 mmol/l. |
|                    | Potassium iodique         |             |
|                    | Sulfate de cuivre (II)    | 5 mmol/l.   |
| <b>Etalon</b>      | Sérum albumine bovin      | 7 g/dl      |

**3- Réactifs:** le réactif est prêt à l'emploi.

**4- Echantillon :** Plasma.

**5- Mode opératoire :**

|                            | Blanc | Etalon | Echantillon |
|----------------------------|-------|--------|-------------|
| Réactif de travail<br>(ml) | 1.0   | 1.0    | 1.0         |
| Etalon (µl)                | --    | 25     | --          |
| Echantillon (µl)           | --    | --     | 25          |

Mélanger, incuber pendant 5 min à 37°C, ou 15-20 min à une température ambiante. Lire les absorbances des échantillons et de l'étalon contre le blanc réactif à 540 nm. La coloration finale est stable au moins 30 minutes.

**6- Calcul de la concentration :**

$$\text{Protéine totale (g/dl)} = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times \text{Concentration de l'étalon (7g/dl)}$$

**2.2.6.4.4. Mesure de la glycémie**

**Principe :** le dosage du glucose sanguin a été effectué selon **Krim (2014)** par un glucomètre qui utilise des bandelettes réactives. Ces dernières sont destinées à un usage diagnostique *in vitro* pour le test de la glycémie. Elles sont conçues pour mesurer le glucose dans le sang total capillaire. La bandelette réactive contient de la glucose-oxydase, une enzyme qui oxyde le glucose dans le sang et qui produit de l'acide D-gluconique et du peroxyde d'hydrogène.

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

- . Le symbole d'une goutte clignote.
- . Déposer la goutte de sang sur la zone de dépôt orange de la bandelette.
- . La mesure est terminée au bout de 5 secondes environ, et le résultat apparaît à l'écran. La glycémie est donnée en g/l.

### 2.2.6.5. Dosage des transaminases et de la phosphatase alcaline

#### 2.2.6.5.1. Dosage d'alanine aminotransférase (ALAT/TGP) : selon la fiche technique *Biomaghreb (bergmeyer, 1978 ; Bergmeyer, 1980)*.

##### Principe :

Le principe est présenté selon la réaction suivante :



La diminution de la concentration en NADH est directement proportionnelle à l'activité enzymatique d'alanine aminotransférase dans l'échantillon.

|                                |                             |             |
|--------------------------------|-----------------------------|-------------|
| <b>Réactifs 1:</b><br>Tampon   | Tampon Tris pH 7.5          | 100 mmol/l  |
|                                | Tampon L- alanine           | 500 mmol/l  |
| <b>Réactif 2 :</b><br>Substrat | NADH                        | 0.18 mmol/L |
|                                | Lactate déhydrogenase (LDH) | 1200 U/L    |
|                                | oxoglutarate                | 15 mmol/l   |

**2- Réactif de travail:** dissoudre une tablette de réactif 2 (substrat) dans le tampon (réactif 1).

**4- Echantillon :** Plasma.

**5- Mode opératoire :**

|                                |     |
|--------------------------------|-----|
| <b>Réactif de travail (ml)</b> | 1.0 |
| <b>Echantillon (µl)</b>        | 100 |

Mélanger, incuber pendant une minute à température ambiante et lire l'absorbance initiale à 340 nm. Lire à nouveau après 1, 2 et 3 minutes. Déterminer la moyenne des absorbances par minutes ( $\Delta$  Abs/min) pour l'utiliser dans les calculs

**6- Calcul de la concentration :**

$$\text{ALAT (U/L)} = \Delta A / \text{min} \times 1750$$

**2.2.6.5.2. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT/TGO):** selon la fiche technique biomaghreb (Bergmyer et al, 1976 ; Bergmeyer et Wahiegeld, 1978)

**1- Principe :**

L'aspartate aminotransférase (AST) appelée aussi L'oxaloacétate de glutamate (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate au  $\alpha$ -cétoglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH,H<sup>+</sup>.



## 2- Réactifs :

|                                |                             |              |
|--------------------------------|-----------------------------|--------------|
| <b>Réactif 1 :</b><br>tampon   | Tris pH 7.8                 | 80 mmol/l.   |
|                                | L- aspartate                | 200 mmol/l.  |
| <b>Réactif 2 :</b><br>Substrat | NADH                        | 0.18 mmol/L. |
|                                | Lactate déhydrogenase (LDH) | 800 U/L.     |
|                                | Malate déhydrogenase (MDH)  | 600U/l.      |
|                                | $\alpha$ -oxoglutarate      | 12 mmol/L    |

3- **Réactif de travail:** dissoudre une tablette de réactif 2 (substrat) dans le tampon (réactif 1).

4- **Echantillon :** Plasma.

5- **Mode opératoire :**

|  |     |
|--|-----|
| <b>Réactif de travail (ml)</b>         | 1   |
| <b>Echantillon (<math>\mu</math>l)</b> | 100 |

Mélanger, incuber pendant une minute. Lire à 340 l'absorbance initiale et démarrer le Chronomètre simultanément. Lire à nouveau après 1, 2 et 3 minutes.

6- **Calcul de la concentration :**

$$\text{ASAT (U/L)} = \Delta A / \text{min} \times 1750$$

**2.2.6.5.3. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL):** selon la fiche technique *Biomaghreb* (Houssamen *et al.*, 1977)

**Principe :**

La phosphatase alcaline catalyse l'hydrolyse de p-nitrophényl phosphate à pH 10.4 pour donner le p-nitrophénol et le phosphate selon la réaction suivante :



La formation de p-nitrophénol est mesurée photométriquement, où elle est proportionnelle à l'activité catalytique de la phosphatase alcaline dans l'échantillon.

**1- Réactifs :**

|                                |                              |           |
|--------------------------------|------------------------------|-----------|
| <b>Réactif 1 :</b><br>Tampon   | Diethanolamine (DEA) pH 10.4 | 1 mmol/l  |
| <b>Réactif 2 :</b><br>substrat | nitrophényl phosphate (pNPP) | 10 mmol/L |

**2- Réactif de travail:** dissoudre une tablette de réactif 2 (substrat) dans le tampon (réactif 1).

**3- Echantillon :** Plasma.

**4- Mode opératoire :**

|                           |     |
|---------------------------|-----|
| <b>Réactif de travail</b> | 1.0 |
| <b>Echantillon (µl)</b>   | 20  |

Mélanger, incuber pendant une minute. Lire à 405 l'absorbance initiale et démarrer le chronomètre simultanément. Lire à nouveau après 1, 2 et 3 minutes. Déterminer la moyenne des absorbances par minute ( $\Delta$  Abs/min) pour l'utiliser dans les calculs.

**5- Calcul de la concentration :**

$$PAL (U/L) = \Delta A/min \times 3300$$

**2.2.7. Analyse statistique des données**

L'analyse statistique des données a été effectuée à l'aide du logiciel MINITAB. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  SEM (*Standard Error of the Mean*). L'analyse statistique a été effectuée par le modèle linéaire généralisé suivi du test de Tukey pour la comparaison multiple. Les valeurs de  $P \leq 0,05$  sont considérées significatives.

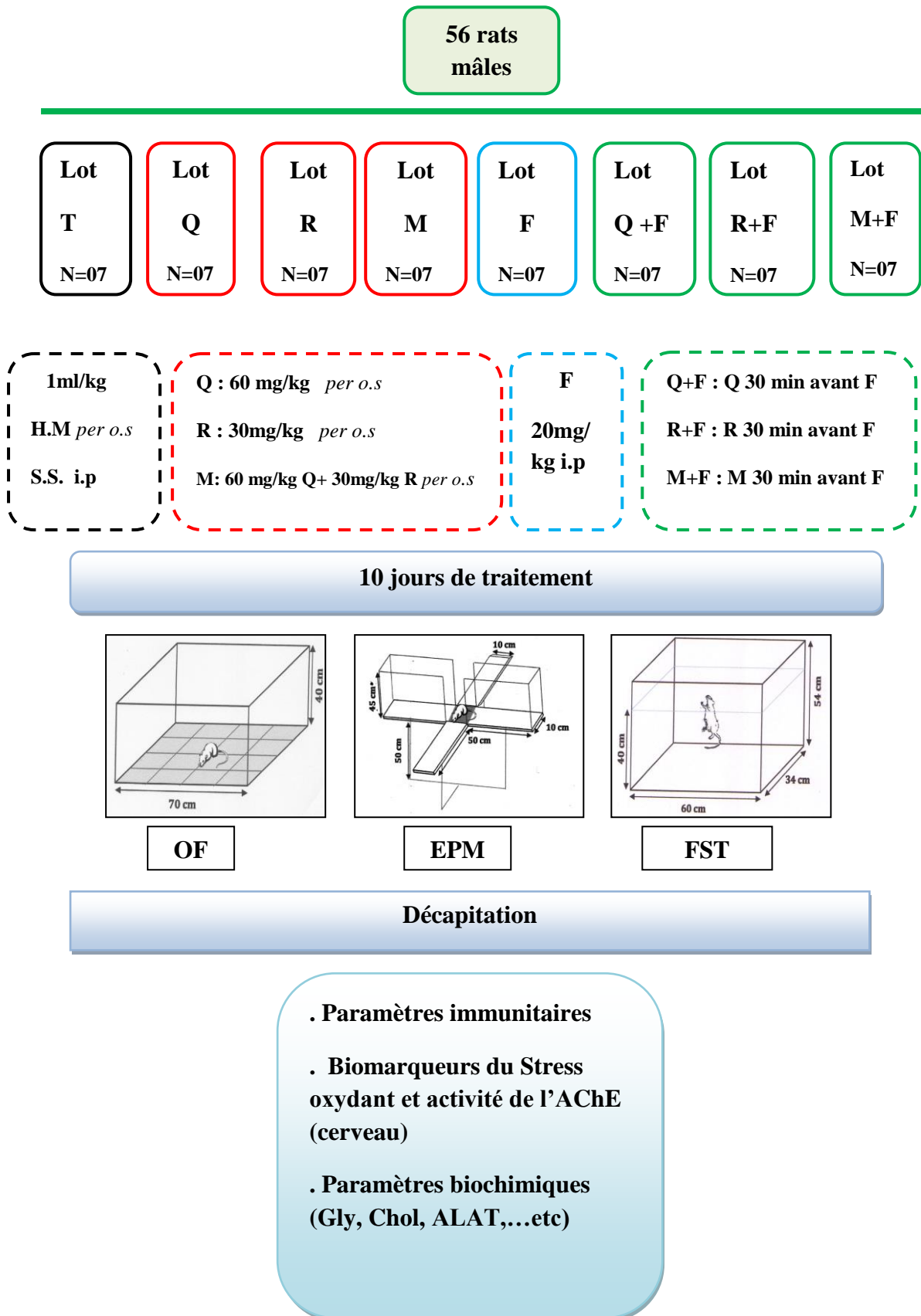


Figure 07. Protocole expérimental.

# **RESULTATS**

### 3. RESULTATS

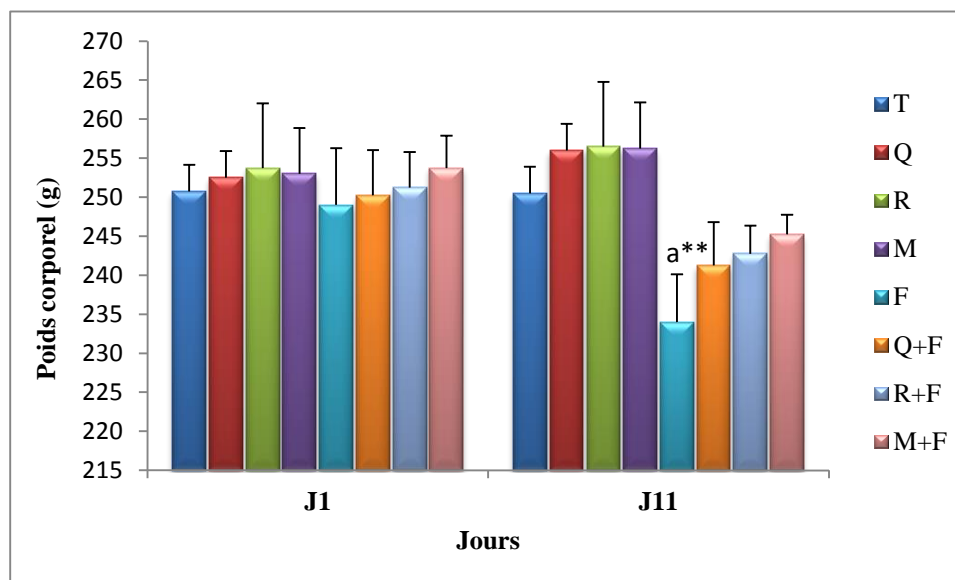
#### 3.1. Variation du poids corporel

D'après le tableau 01 et la figure 08. Les rats traités au fenthion montrent une diminution très significative ( $p < 0.01$ ) du poids corporel comparativement aux rats témoins, cependant un prétraitement à la quercétine, au resvératrol et au mélange quercétine + resvératrol a prévenu non significativement cette perte pondérale.

**Tableau 01.** Variation du poids corporel chez les rats témoins et traités.

| Jours/ Lot | T               | Q              | R               | M              | F                      | Q+F             | R+F             | M+F             |
|------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| J1         | 250.75<br>±4.57 | 252.5<br>±3.41 | 253.75<br>±8.26 | 253<br>±5.88   | 249<br>±7.27           | 250.25<br>±5.79 | 251.25<br>±4.54 | 253.75<br>±4.11 |
| J11        | 250.5<br>±4.65  | 256<br>±3.36   | 256.5<br>±6.85  | 256.25<br>±4.5 | 234.75<br>±6.13<br>a** | 241.25<br>±6.55 | 242.75<br>±3.59 | 245.25<br>±2.5  |

\*\*  $p < 0.01$  (a : comparaison vs T, n=7)



**Figure 08.** Variation du poids corporel chez les rats témoins et traités.

\*\*  $p < 0.01$  (a : comparaison vs T, n=7).

### 3. 2.Variation des paramètres des tests comportementaux

#### 3.2.1. Variation des paramètres du labyrinthe en croix surélevé

Les résultats des rats traités au fenthion montrent une augmentation hautement significative ( $p<0.001$ ) du temps passé dans les bras fermés et une diminution hautement significative ( $p<0.001$ ) du temps passé dans les bras ouverts ( $p<0.001$ ) par rapport aux témoins, cependant, un prétraitement à la quercétine, au resvératrol et au mélange a modulé le temps d'exploration dans les deux bras. Cette modulation était plus importante chez les rats prétraités au mélange avec une différence statistique hautement significative ( $p<0.001$ ) comparativement aux rats du lot fenthion (Tableau 02; Figure 09a,b). Néanmoins, l'analyse statistique montre une différence hautement significative ( $p<0.001$ ) par rapport aux témoins.

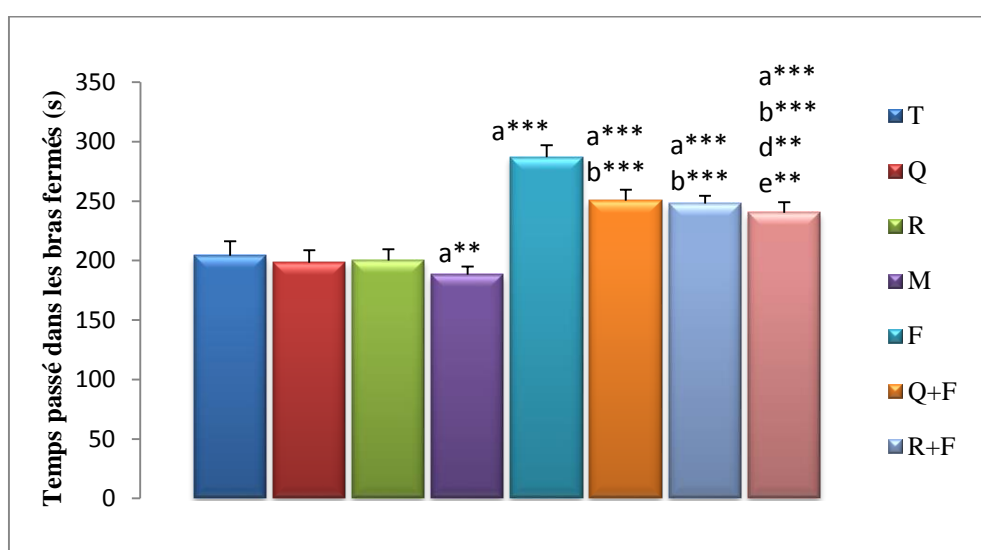
**Tableau 02.** Variation des paramètres du labyrinthe en croix surélevé chez les rats témoins et traités.

| Lots/<br>Paramètres                   | T                | Q                | R              | M                     | F                      | Q+F                              | R+F                             | M+ F   |
|---------------------------------------|------------------|------------------|----------------|-----------------------|------------------------|----------------------------------|---------------------------------|--|
| Temps passé dans les bras fermés (s)  | 204.14<br>±12.13 | 198.29<br>±10.35 | 200.22<br>±9.3 | 188.2<br>±6.7<br>a**  | 287<br>±10.07<br>a***  | 250.43<br>±9.23<br>a***,<br>b*** | 248.13<br>±6.3<br>a***,<br>b*** | 240.23<br>±8.9<br>a***,<br>b***,<br>d**, e** |
| Temps passé dans les bras ouverts (s) | 55.14<br>±3.02   | 57.86<br>±3.63   | 55.26<br>±2.67 | 70.23<br>±4.02<br>a** | 12.14<br>±5.02<br>a*** | 28.86<br>±6.03<br>a***,<br>b***  | 30.12<br>±5.01<br>a***,<br>b*** | 36.13<br>±4.02<br>a***,<br>b***,<br>d**, e** |
| Nombre d'entrées dans les bras fermés | 5.57<br>±0.97    | 5.71<br>±0.8     | 5.32<br>±0.53  | 6.01<br>±0.75         | 1.42<br>±1.00<br>a***  | 2.71<br>±0.8<br>a**, b**         | 3.01<br>±0.98<br>a*, b**        | 4.01<br>±0.98<br>b***,<br>d*, e*             |
| Nombre d'entrée dans les bras ouverts | 5.43<br>±1.02    | 5.71<br>±0.75    | 5.65<br>±0.53  | 5.23<br>±0.69         | 0,57<br>±0.53<br>a***  | 3.14<br>±0.52<br>a**, b***       | 3.26<br>±0.6<br>a**,<br>b***    | 4.02<br>±0.62<br>b***                        |

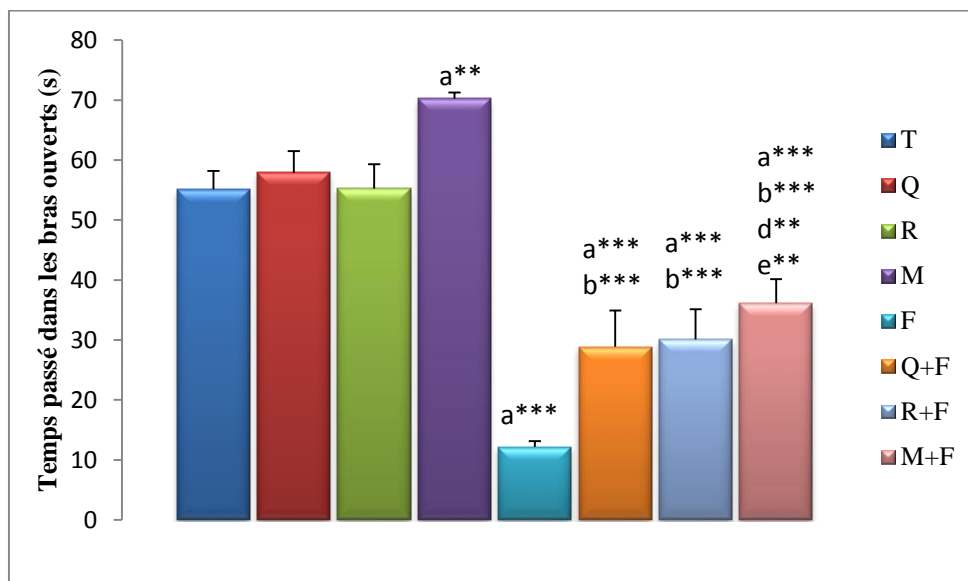
\* $p<0.05$  ; \*\*  $p<0.01$  ; \*\*\*  $p<0.001$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F ; d : M+F vs Q+F ; e : M+F vs R+F, n=7)

Concernant le nombre d'entrées dans les bras, Les rats traités au fenthion montre une diminution significative ( $p<0.001$ ) du nombre d'entrées dans les bras fermés et ouverts

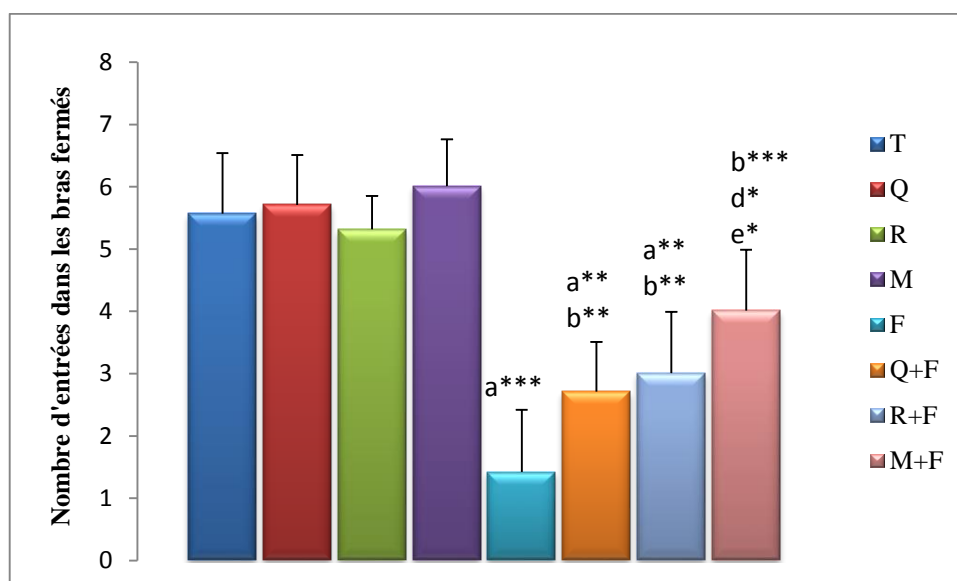
( $p < 0.001$ ) par rapport aux témoins, cependant, un prétraitement à la quercétine, au resvératrol a prévenu remarquablement la diminution du nombre d'entrées avec une différence très significative ( $p < 0.01$ ) pour les bras fermés et hautement significative ( $p < 0.001$ ) pour les bras ouverts. Cette prévention était plus notable chez les rats prétraités au mélange avec une différence statistique hautement significative ( $p < 0.001$ ) comparativement aux rats du lot fenthion (Tableau 02; Figure 09c, d). Néanmoins, aucune différence statistique n'a été signalée par rapport aux témoins.



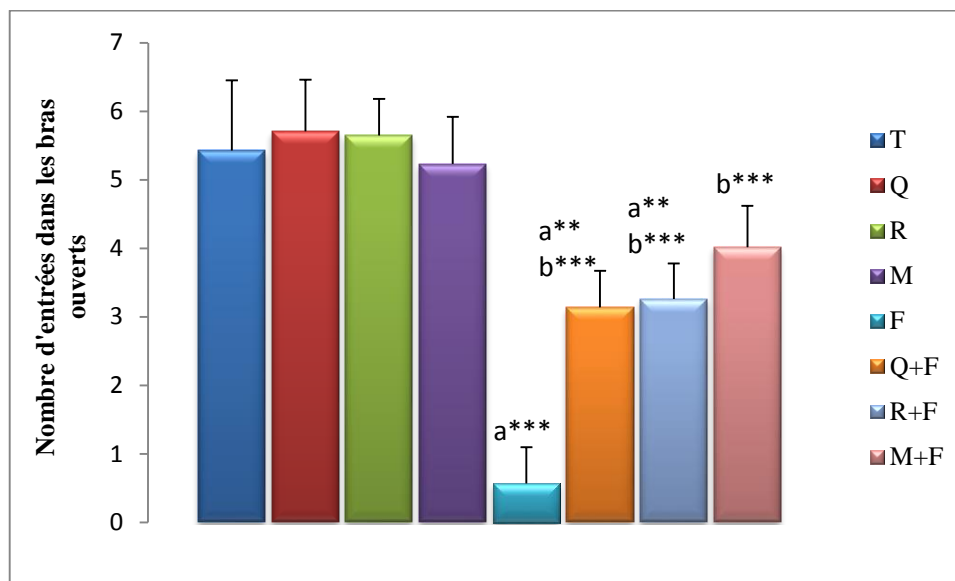
**Figure 09a.** Temps passé dans les bras fermés chez les rats témoins et traités. \*\*  $p < 0.01$  ; \*\*\*  $p < 0.001$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F ; d : M+F vs Q+F ; e : M+F vs R+F, n=7)



**Figure 09b.** Temps passé dans les bras ouverts chez les rats témoins et traités. \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F ; d : M+F vs Q+F ; e : M+F vs R+F, n=7)



**Figure 09c.** Nombre d'entrées dans les bras fermés chez les rats témoins et traités. \*  $p < 0.05$  ; \*\*  $p < 0.01$  ; \*\*\*  $p < 0.001$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F ; d : M+F vs Q+F ; e : M+F vs R+F, n=7)



**Figure 09d.** Nombre d'entrées dans les bras ouverts chez les rats témoins et traités. \*\*  $p < 0.01$  ; \*\*\*  $p < 0.001$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F,  $n=7$ )

### 3.2.2. Variation des paramètres du champ ouvert

Nos résultats montrent les rats traités au fenthion montrent une diminution hautement significative ( $p < 0.001$ ) de la distance parcourue par rapport aux témoins, alors que les rats prétraités à la quercétine, au resvératrol et au mélange montrent une augmentation hautement significative ( $p < 0.001$ ) de la distance parcourue par rapport aux rats traités au fenthion. Cette augmentation est plus importante chez les rats prétraités au mélange. Cependant, la différence significative reste notée par rapport aux témoins (Tableau 03; Figure 10a).

Concernant le temps passé dans la zone périphérique, les rats montrent une augmentation hautement significative ( $p < 0.001$ ) du temps passé dans la périphérie par rapport aux témoins. Cependant, un prétraitement à la quercétine, au resvératrol et au mélange a prévenu cette augmentation avec une différence hautement significative ( $p < 0.001$ ) par rapport aux rats traités au fenthion. Intéressamment, aucune différence statistique n'a été notée entre les rats prétraités au mélange et les rats témoins (Tableau 03; Figure 10b).

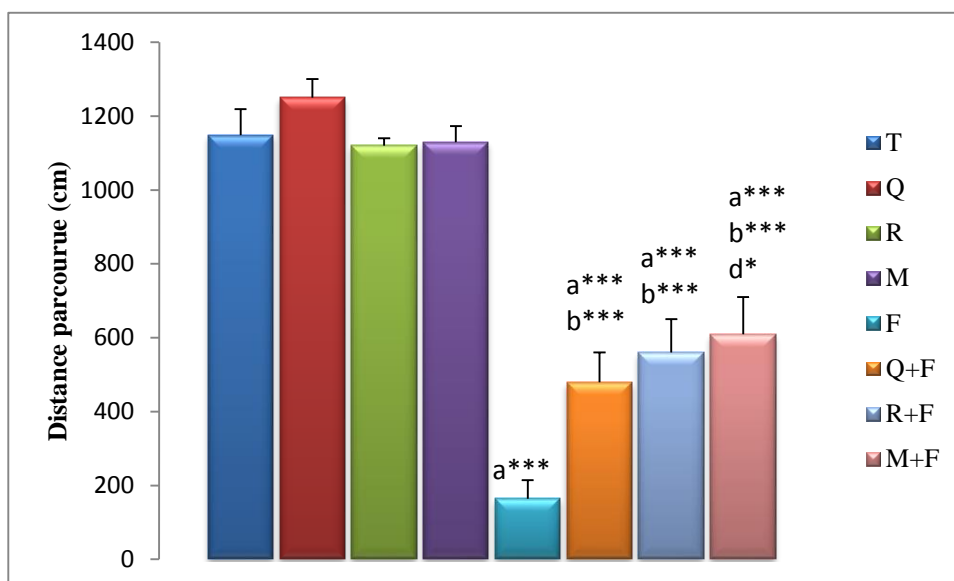
Concernant, le temps passé dans la zone centrale, les rats traités au fenthion montrent une diminution hautement significative du temps passé ( $p<0.001$ ) par rapport aux témoins. Cependant, un prétraitement à la quercétine, au resvératrol et au mélange a prévenu cette diminution avec une différence très significative ( $p<0.01$ ) par rapport aux rats traités au fenthion. Cette prévention est plus importante chez les rats prétraités au mélange (Tableau 03; Figure 10c).

Concernant, le nombre de redressements, les rats traités au fenthion montrent une diminution hautement significative du nombre de redressements ( $p<0.001$ ) par rapport aux témoins. Cependant, un prétraitement à la quercétine, au resvératrol et au mélange a prévenu cette diminution avec une différence très significative ( $p<0.01$ ) par rapport aux rats traités au fenthion. Cette prévention est plus importante chez les rats prétraités au mélange (Tableau 03; Figure 10d).

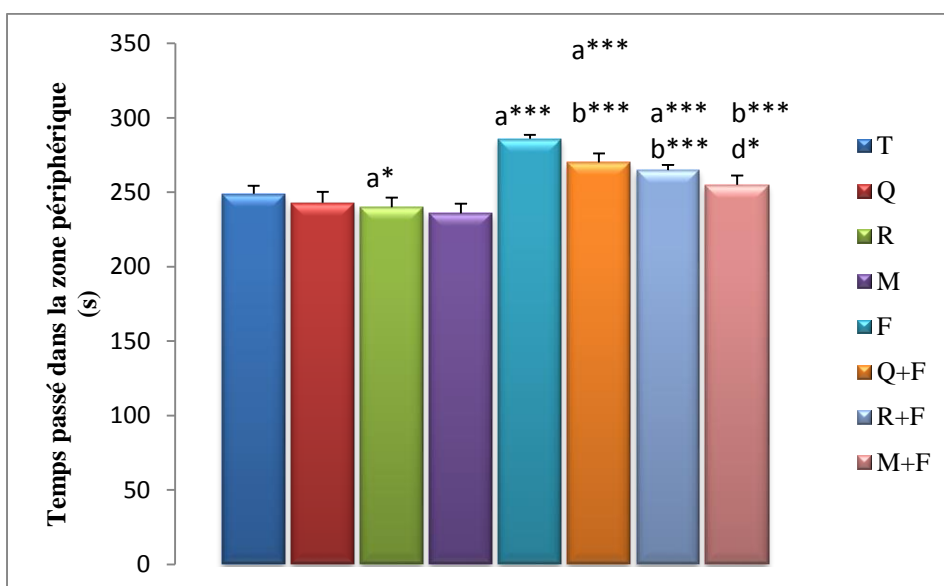
**Tableau 03.** Variation des paramètres du champ ouvert chez les rats témoins et traités.

| Lots/<br>Paramètres                  | T              | Q              | R                 | M                 | F                    | Q+F                           | R+F                           | M+F                                   |
|--------------------------------------|----------------|----------------|-------------------|-------------------|----------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|
| Distance parcourue (cm)              | 1148.8<br>± 70 | 1250<br>± 50.4 | 1120<br>±<br>20.3 | 1130<br>±43.2     | 164,3<br>±50<br>a*** | 480<br>±80<br>a***,<br>b***   | 560<br>±90<br>a***,<br>b***   | 610<br>±100<br>a***,<br>b***,<br>d*   |
| Temps passé dans la périphérie (s)   | 249<br>±5.35   | 243<br>±7.3    | 240<br>±6.2       | 236<br>±6.4<br>a* | 286<br>±2.5<br>a***  | 270<br>±6.2<br>a***,<br>b***  | 265<br>±3.4<br>a***,<br>b***  | 255<br>±6.2<br>b***,<br>d*            |
| Temps passé dans la zone centrale(s) | 22.3<br>±2.80  | 24<br>±3.91    | 23.1<br>±2.05     | 20<br>±2.5        | 8.5<br>±2<br>a***    | 13.27<br>±1.7<br>a***,<br>b** | 14.27<br>±3.04<br>a***<br>b** | 16<br>±3.02<br>a**,<br>b**            |
| Nombre de redressements              | 15.02<br>±1    | 14.9<br>±1.5   | 15.4<br>±1.3      | 15.9<br>±1.36     | 1.02<br>±1.8<br>a*** | 4.23<br>±1.2<br>a***,<br>b*   | 6.25<br>±1.23<br>a***,<br>b** | 8.29<br>±1.25<br>a***,<br>b***,<br>d* |

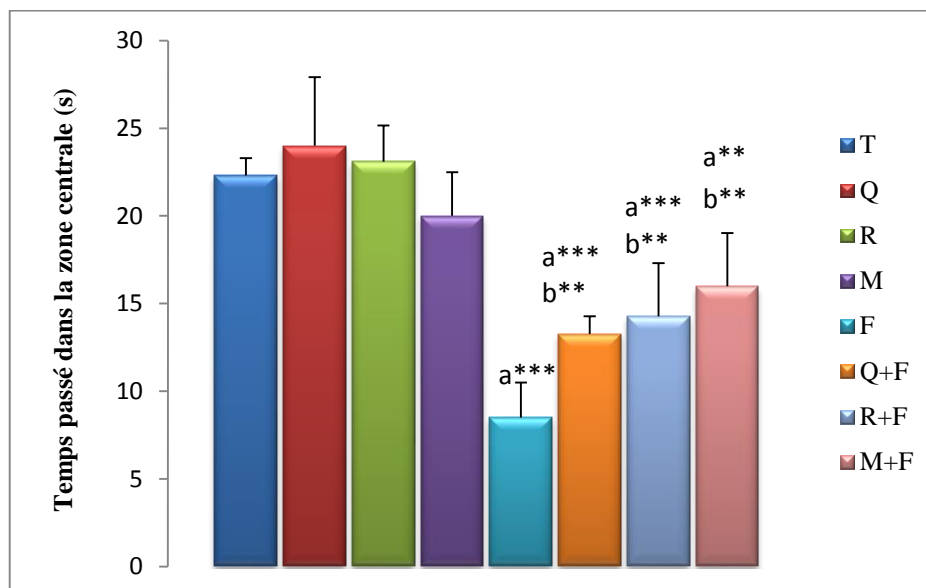
\*  $p<0.05$  ; \*\*  $p<0.01$  ; \*\*\*  $p<0.001$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F ; d : M+F vs Q+F, n=7)



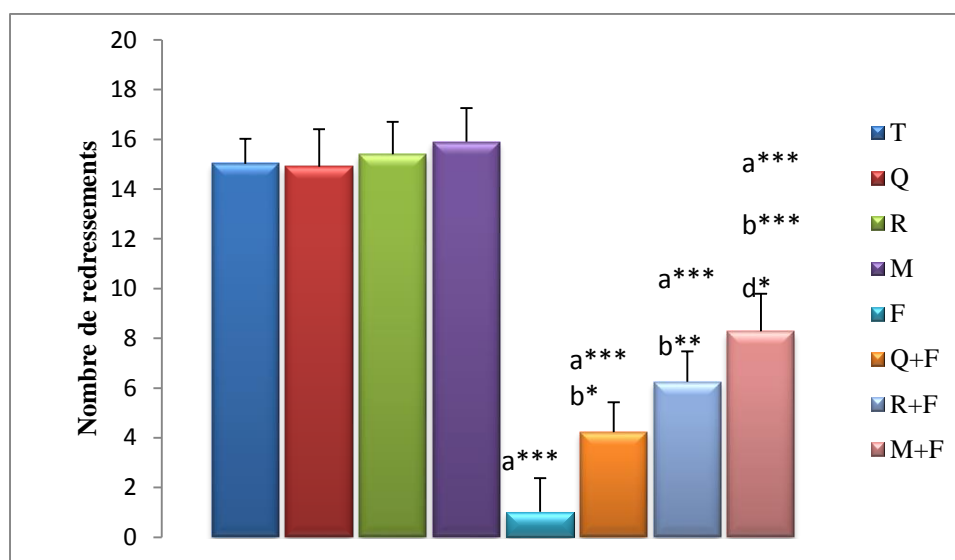
**Figure 10a.** Distance parcourue chez les rats témoins et traités. \*  $p < 0.05$ ; \*\*\*  $p < 0.001$  (a : comparaison vs T; b : comparaison vs F ; d : M+F vs Q+F, n=7).



**Figure 10b.** Temps passé dans la zone périphérique chez les rats témoins et traités. \*  $p < 0.05$  ; \*\*\*  $p < 0.001$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F ; d : M+F vs Q+F, n=7)



**Figure 10c.** Temps passé dans la zone centrale chez les rats témoins et traités. \*\*  $p < 0.01$  ; \*\*\*  $p < 0.001$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F ; d : M+F vs Q+F, n=7)



**Figure 10d.** Nombre de redressements chez les rats témoins et traités. \*  $p < 0.05$  ; \*\*  $p < 0.01$  ; \*\*\*  $p < 0.001$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F ; d : M+F vs Q+F, n=7).

### 3.2.3. Variation des paramètres de la nage forcée

Nos résultats montrent que les rats traités au fenthion montre une augmentation hautement significative ( $p < 0.001$ ) du temps d'immobilité par rapport aux témoins. Un prétraitement à la

quercétine, au resvératrol et au mélange a diminué remarquablement le temps d'immobilité avec une différence très significative ( $p < 0.01$ ) pour le lot prétraité à la quercétine et au resvératrol et une différence hautement significative ( $p < 0.001$ ) pour le lot traité au mélange. Intéressamment, les rats seulement traités à la quercétine, au resvératrol et au mélange montrent une diminution hautement significative ( $p < 0.001$ ) du temps d'immobilité comparativement aux témoins (Tableau 04; Figure 11a).

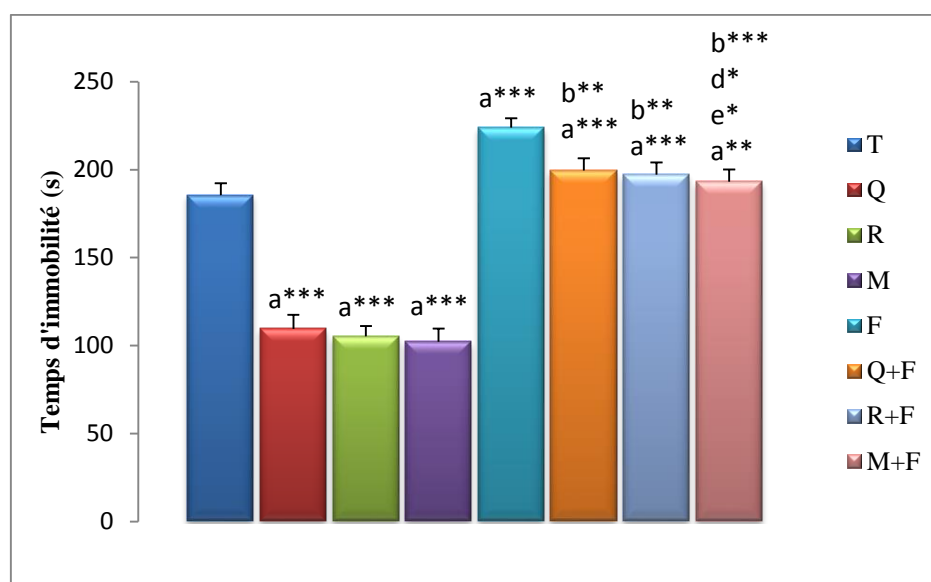
Concernant le temps de nage, les rats traités au fenthion montrent une diminution hautement significative ( $p < 0.001$ ) du temps de nage par rapport aux témoins. Un prétraitement à la quercétine, au resvératrol et au mélange a augmenté remarquablement le temps de nage avec une différence très significative ( $p < 0.01$ ) pour le lot prétraité à la quercétine et au resvératrol et une différence hautement significative ( $p < 0.001$ ) pour le lot traité avec le mélange. Intéressamment, les rats seulement traités à la quercétine, au resvératrol et au mélange montre une augmentation hautement significative ( $p < 0.001$ ) du temps de nage comparativement aux témoins (Tableau 04; Figure 11b).

Concernant le temps d'escalade, Les rats traités au fenthion montre une diminution hautement significative ( $p < 0.001$ ) du temps d'escalade par rapport aux témoins. Un prétraitement à la quercétine, au resvératrol et au mélange a augmenté remarquablement le temps d'escalade avec une différence très significative ( $p < 0.01$ ) pour le lot prétraité à la quercétine et au resvératrol et au mélange. Intéressamment, les rats seulement traités à la quercétine, au resvératrol et au mélange montrent une augmentation hautement significative ( $p < 0.001$ ) du temps d'escalade comparativement aux témoins (Tableau 04; Figure 11c).

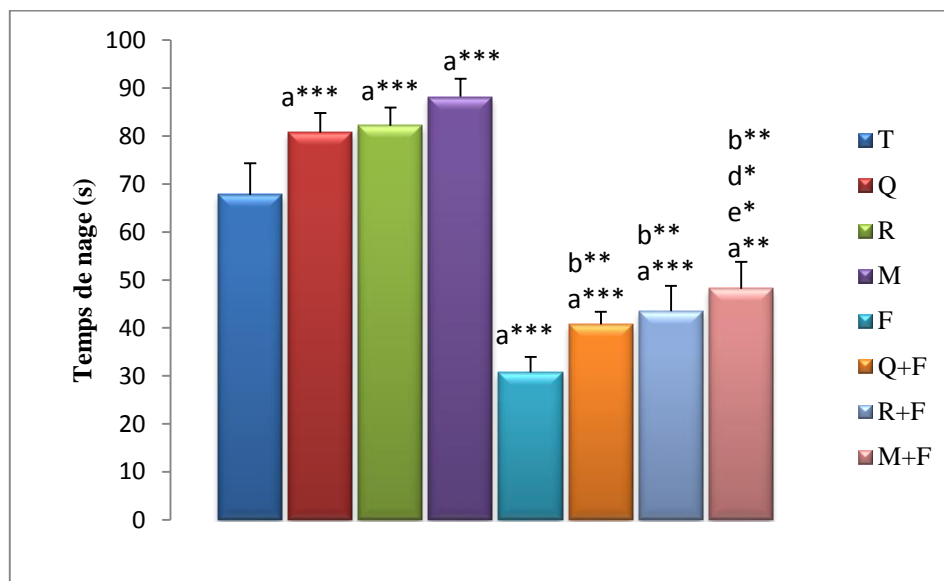
**Tableau 04.** Variation des paramètres de la nage forcée chez rats témoins et traités.

| Paramètres /Lots       | T              | Q                      | R                       | M                      | F                     | Q+F                          | R+F                          | M+ F                                    |
|------------------------|----------------|------------------------|-------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------------|------------------------------|---|
| Temps d'immobilité (s) | 185.5<br>±6.7  | 109.5<br>±7.94<br>a*** | 105.23<br>±5.92<br>a*** | 102.2<br>±7.43<br>a*** | 224<br>±5.2<br>a***   | 199.5<br>±5.6<br>a***<br>b** | 197.2<br>±6.9<br>a***<br>b** | 193.2<br>±6.9<br>a**<br>b***,<br>d*, e* |
| Temps de nage(s)       | 67.75<br>±6.6  | 80.75<br>±4.03<br>a*** | 82.13<br>±3.77<br>a***  | 88.2<br>±3.75<br>a***  | 30.75<br>±3.2<br>a*** | 40.75<br>±2.6<br>a***<br>b** | 43.5<br>±5.3<br>a***<br>b**  | 48.2<br>±5.6<br>a***<br>b**<br>d*, e*   |
| Temps d'escalade (s)   | 44.25<br>±4.34 | 54.25<br>±4.32<br>a*** | 52.13<br>±4.11<br>a***  | 53.12<br>±2.6<br>a***  | 25.25<br>±4.2<br>a*** | 33.75<br>±3.2<br>a**<br>b**  | 34.23<br>±5.2<br>a**<br>b**  | 38.12<br>±5.3<br>a**,<br>b**, d*,<br>e* |

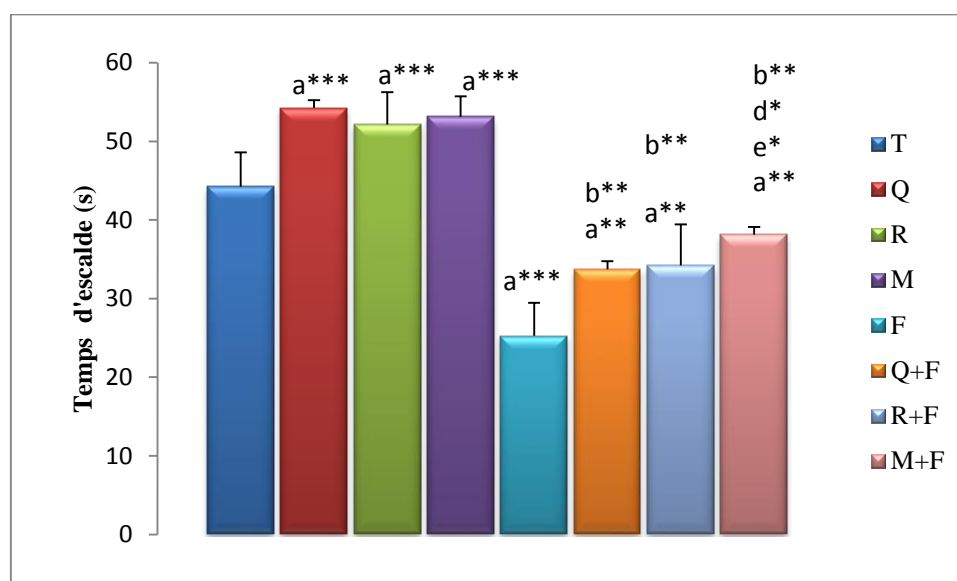
\*  $p < 0.05$  ; \*\*  $p < 0.01$  ; \*\*\*  $p < 0.001$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F ; d : M+F vs Q+F ; e : M+F vs R+F, n=7)



**Figure 11a.** Variation du temps d'immobilité chez les rats témoins et traités. \*  $p < 0.05$  ; \*\*  $p < 0.01$  ; \*\*\*  $p < 0.001$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F ; d : M+F vs Q+F ; e : M+F vs R+F, n=7)



**Figure 11b.** Variation du temps de nage chez les rats témoins et traités. \*  $p < 0.05$  ; \*\*  $p < 0.01$  ; \*\*\*  $p < 0.001$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F ; d : M+F vs Q+F ; e : M+F vs R+F, n=7)



**Figure 11c.** Variation du temps d'escalade chez les rats témoins et traités. \*  $p < 0.05$  ; \*\*  $p < 0.01$  ; \*\*\*  $p < 0.001$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F ; d : M+F vs Q+F ; e : M+F vs R+F, n=7)

### 3.3. Variation des paramètres immunitaires

Nos résultats montrent que les rats traités au fenthion montrent une augmentation hautement significative ( $p < 0.001$ ) des leucocytes totaux comparativement aux témoins. En addition, les rats seulement traités à la quercétine, au resvératrol et au mélange montrent aussi une augmentation significative des leucocytes totaux. Cependant, un prétraitement à la quercétine, au resvératrol et au mélange a allégé cette leucocytose. Cette prévention était plus importante chez le lot prétraité au resvératrol (Tableau 05; Figure 12a).

Concernant les lymphocytes, Les rats traités au fenthion montrent une augmentation hautement significative ( $p < 0.001$ ) du taux de lymphocytes comparativement aux témoins. Cependant un prétraitement à la quercétine, au resvératrol a atténué cette lymphocytose. Cette atténuation était hautement significative ( $p < 0.001$ ) par rapport au lot fenthion. Intéressamment, les rats traités seulement à la quercétine, montrent une augmentation significative des lymphocytes ( $p < 0.05$ ), alors que les lots seulement traités au resvératrol et au mélange montrent une diminution très significative des lymphocytes ( $p < 0.001$ ) (Tableau 05; Figure 12b).

Concernant le taux des neutrophiles, les rats traités au fenthion montrent une diminution très significative ( $p < 0.01$ ) du taux des neutrophiles comparativement aux témoins. Alors que les rats prétraités à la quercétine, au resvératrol et au mélange montrent une diminution hautement significative ( $p < 0.001$ ) par rapport aux rats traités au fenthion. Intéressamment, les rats traités seulement à la quercétine montrent une diminution hautement significative ( $p < 0.001$ ) du taux des neutrophiles, alors que les rats traités au resvératrol et au mélange ont montré une augmentation hautement significative ( $p < 0.001$ ) du taux des neutrophiles (Tableau 05; Figure 12c).

Les rats traités au fenthion montrent une augmentation significative ( $p < 0.05$ ) des monocytes par rapport aux témoins, cependant, un prétraitement à la quercétine, au resvératrol et au

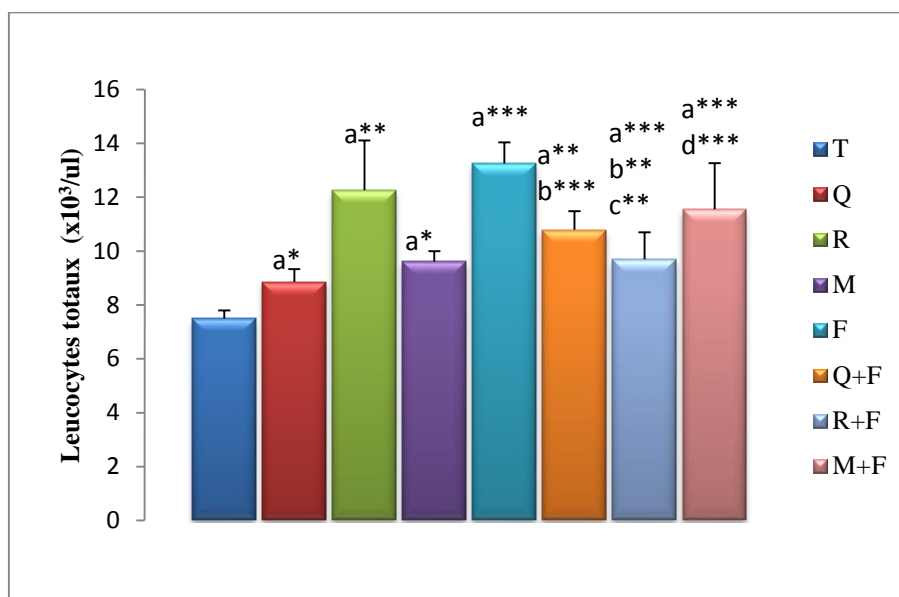
mélange a prévenu remarquablement cette monocytose avec une différence hautement significative comparativement au lot traité du fenthion ( $p<0.001$ ). La prévention était plus importante chez le lot prétraité au mélange avec une différence statistiquement ( $p<0.05$ ) significative par rapport aux lots prétraités à la quercétine et l'autre au resvératrol (Tableau 05; Figure 12d).

Les rats traités au fenthion montrent une diminution très significative ( $p<0.001$ ) des éosinophiles. Cependant, un prétraitement à la quercétine, au resvératrol et au mélange a prévenu remarquablement cette diminution avec une différence statistique hautement significative ( $p<0.001$ ) par rapport aux rats traités au fenthion (Tableau 05; Figure 12e).

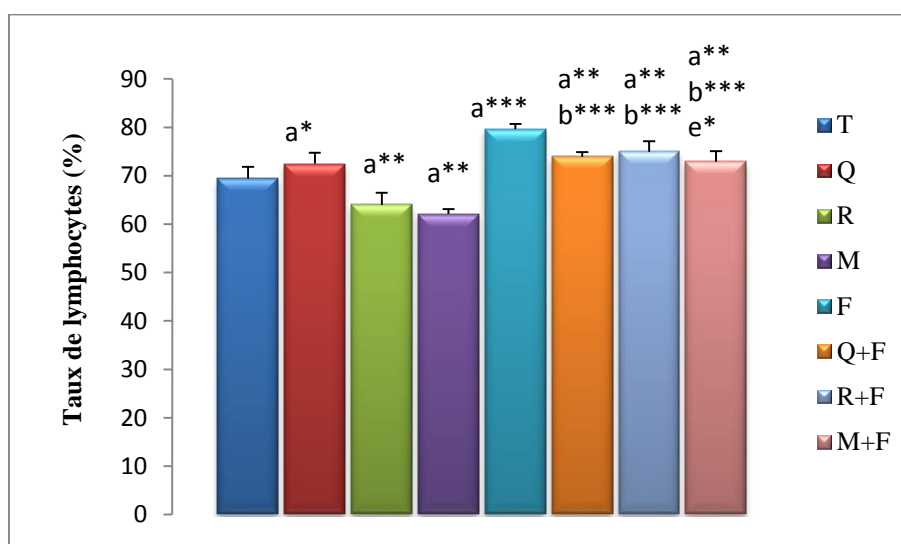
**Tableau 05.** Variation des paramètres immunitaires chez les rats témoins et traités.

| Lots/<br>Paramètres          | T              | Q                      | R                      | M                    | F                      | Q+F                            | R+F                               | M+ F                                   |
|------------------------------|----------------|------------------------|------------------------|----------------------|------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|--|
| GB<br>(x10 <sup>3</sup> /ul) | 7.495<br>±0.29 | 8.85<br>±0.47<br>a*    | 12.265<br>±1.84<br>a** | 9.62<br>±0.37<br>a*  | 13.25<br>±0.78<br>a*** | 10.78<br>±0.69<br>a*, b***     | 9.7<br>±0.57<br>a***,<br>b**, c** | 11.55<br>±1.70<br>a***,<br>d***        |
| LYM (%)                      | 69.45<br>±0.79 | 72.47<br>±2.32<br>a*   | 63.97<br>±2.26<br>a**  | 62.1<br>±2.71<br>a** | 79.68<br>±2.5<br>a***  | 73.9<br>±2.17<br>a**,<br>b***  | 74.97<br>±2.11<br>a**,b***        | 72.92<br>±2.19<br>a**,<br>b***,<br>e*  |
| MON (%)                      | 3.75<br>±0.2   | 3.92<br>±0.8           | 7.15<br>±0.12<br>a**   | 7.37<br>±0.22<br>a** | 5.52<br>±0.43<br>a*    | 3.3<br>±0.33<br>b***           | 3.07<br>±0.12<br>b***             | 3.92<br>±0.46<br>b***,<br>d*, e*       |
| NEUT(%)                      | 24.92<br>±1.36 | 19.87<br>±1.69<br>a*** | 30.55<br>±5.38<br>a**  | 34.7<br>±1.26<br>a** | 10.3<br>±0.08<br>a**   | 18.8<br>±1.17<br>a***,<br>b*** | 19.45<br>±0.92<br>a***,<br>b***   | 20.02<br>±0.51<br>a***,<br>b***,<br>d* |
| EOS(%)                       | 1.85<br>±0.20  | 1.45<br>±0.20          | 0.8<br>±0.18<br>a**    | 1.35<br>±0.12        | 0.17<br>±0.09<br>a**   | 1.07<br>±0.12<br>a*, b***      | 1.17<br>±0.09 a*,<br>b***         | 1.22<br>±0.17<br>b***,                 |

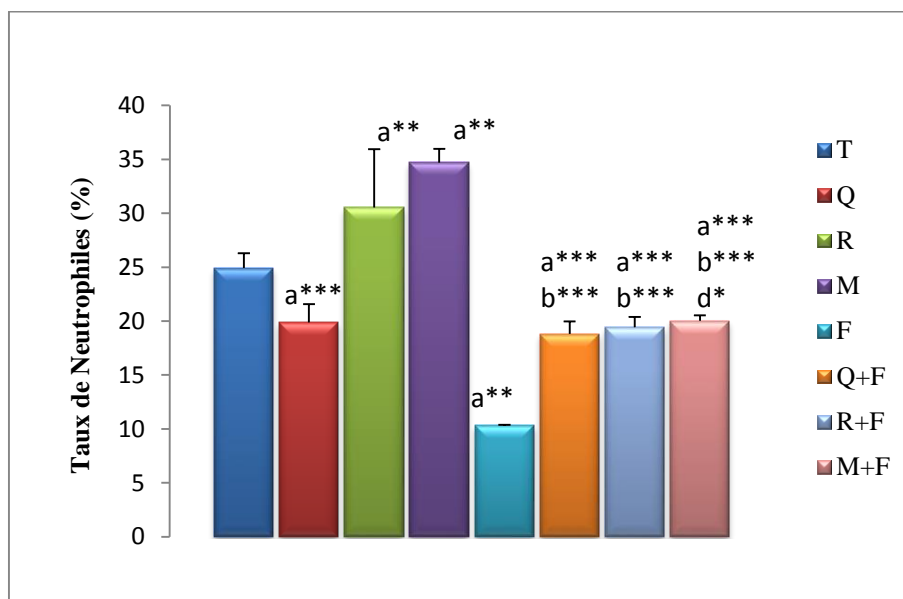
\*  $p<0.05$  ; \*\*  $p<0.01$  ; \*\*\*  $p<0.001$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F ; c : R+F vs Q+F d : M+F vs Q+F ; e : M+F vs R+F, n=7)



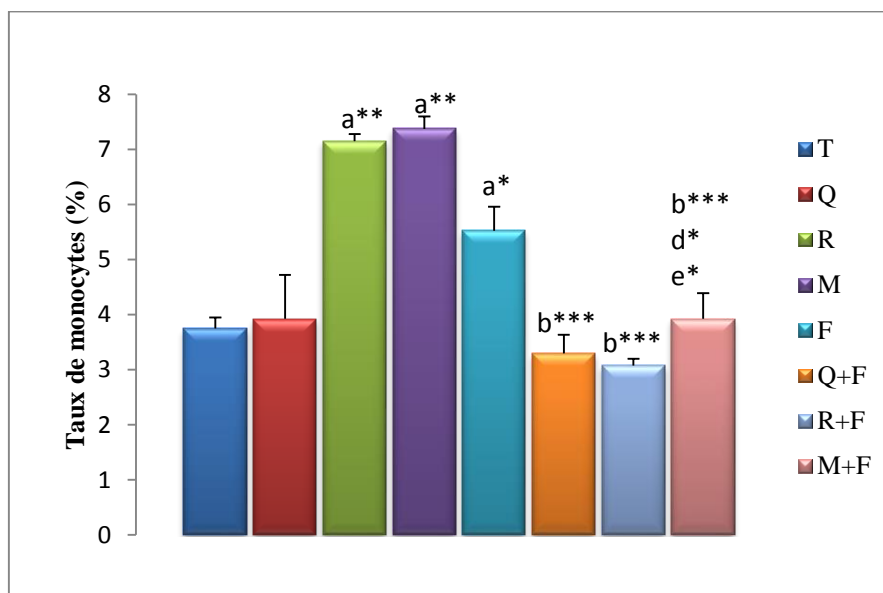
**Figure 12a.** Nombre des leucocytes totaux chez les rats témoins et traités. \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$  (a : comparaison vs T; b : comparaison vs F; c : R+F vs Q+F; d : M+F vs Q+F, n=7)



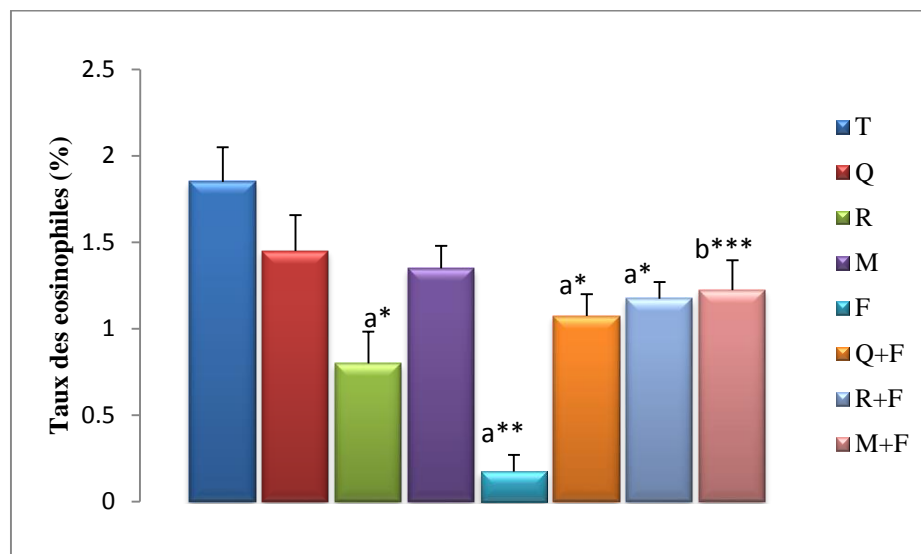
**Figure 12b.** Taux de lymphocytes chez les rats témoins et traités. \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$  (a : comparaison vs T; b : comparaison vs F; d : M+F vs Q+F; e : M+F vs R+F, n=7)



**Figure 12c.** Taux de neutrophiles chez les rats témoins et traités. \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F ; d : M+F vs Q+F, n=7)



**Figure 12d.** Taux de monocytes chez les rats témoins et traités. \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F ; d : M+F vs Q+F ; e : M+F vs R+F, n=7)



**Figure 12e.** Taux des éosinophiles chez les rats témoins et traités. \*  $p < 0.05$  ; \*\*  $p < 0.01$  ; \*\*\*  $p < 0.001$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F, n=7)

### 3.4. Variation des paramètres biochimiques

Les rats traités au fenthion montrent une augmentation significative ( $p < 0.05$ ) du cholestérol par rapport aux témoins. Cependant, les rats prétraités à la quercétine, au resvératrol et au mélange montrent une diminution très significative ( $p < 0.01$ ) du cholestérol comparativement aux rats traités au fenthion (Tableau 06; Figure 13a).

Concernant les triglycérides, les rats traités au fenthion montrent une diminution très significative ( $p < 0.01$ ) par rapport aux témoins. Cependant, les rats prétraités à la quercétine, au resvératrol et au mélange montrent une augmentation significative ( $p < 0.05$ ) des triglycérides par rapport aux rats traités au fenthion. Intéressamment, les rats seulement traités au resvératrol montrent une diminution significative ( $p < 0.05$ ) des triglycérides par rapport aux témoins, cependant, pour les rats traités seulement au mélange la différence était très significative ( $p < 0.001$ ) (Tableau 06; Figure 13b).

Pour les protéines totales, les rats montrent une augmentation non significative par rapport aux témoins, cependant, un prétraitement à la quercétine, au resvératrol et au mélange

montrent une diminution significative ( $p<0.05$ ) par rapport aux rats traités au fenthion (Tableau 06; Figure 13c).

Concernant, l'activité de l'alanine amino-transférase (ALAT), les rats traités au fenthion montrent une augmentation très significative ( $p<0.01$ ) par rapport aux témoins. Cependant, un prétraitement à la quercétine et au resvératrol a diminué très significativement cette activité enzymatique. Intéressamment, la diminution était importante chez les rats traités au mélange ou l'analyse statistique montre une différence très significative par rapport au lot fenthion et aucune différence comparativement aux témoins (Tableau 06; Figure 13d).

Pour l'activité de l'aspartate amino-transférase (ASAT), les rats traités au fenthion montrent une augmentation très significative ( $p<0.01$ ) par rapport aux témoins. Cependant, un prétraitement à la quercétine, resvératrol et au mélange a diminué très significativement ( $p<0.01$ ) cette activité par rapport au fenthion (Tableau 06; Figure 13e).

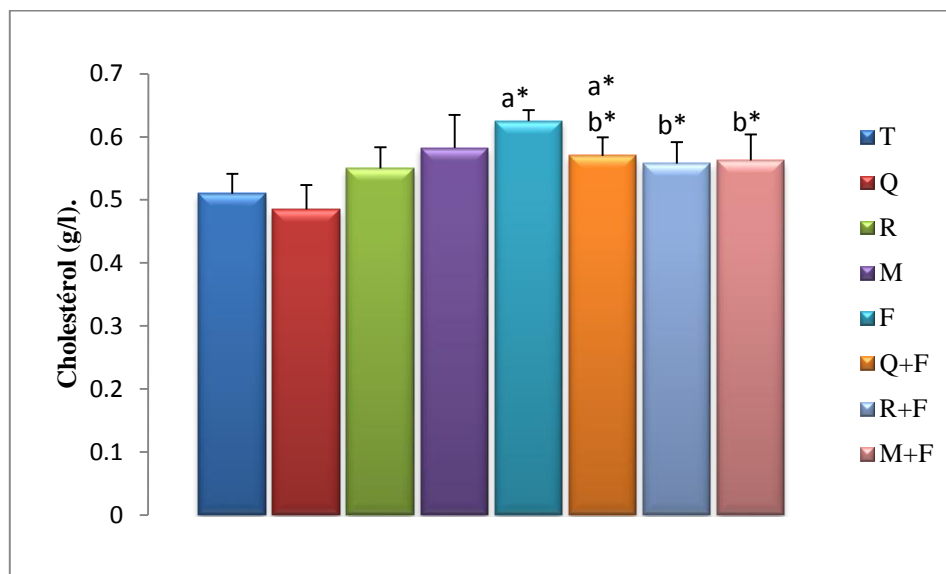
Concernant l'activité de la phosphatase alcaline (PAL), les rats traités au fenthion montrent une augmentation très significative ( $p<0.01$ ) par rapport aux témoins. Cependant un prétraitement à la quercétine, au resvératrol et au mélange a diminué significativement la PAL par rapport au fenthion. La diminution est plus importante chez les rats traités au mélange ou aucune différence statistique n'a été détectée par rapport aux témoins (Tableau 06; Figure 13f).

Pour la glycémie, les rats traités au fenthion montrent une augmentation très significative ( $p<0.01$ ) par rapport aux témoins. Cependant, un prétraitement à la quercétine, au resvératrol et au mélange a diminué très significativement ( $p<0.001$ ) la glycémie. Cette diminution est plus importante chez les rats traités au mélange (Tableau 06; Figure 13g).

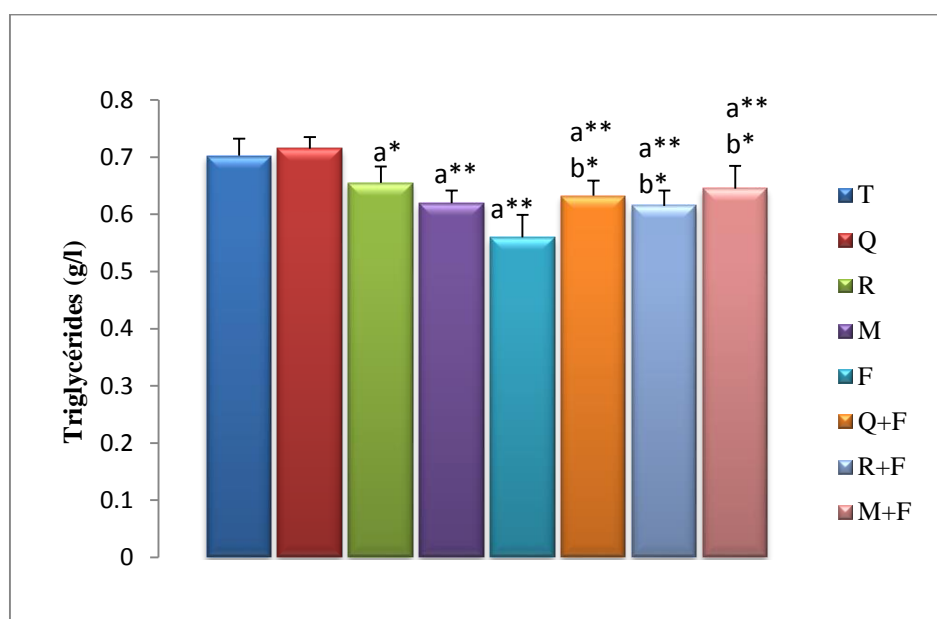
**Tableau 06.** Variation des paramètres biochimiques chez les rats témoins et traités.

| Paramètres/Lots          | T              | Q                    | R                    | M                     | F                     | Q+F                       | R+F                       | M+ F                       |
|--------------------------|----------------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Cholestérol (g/l)        | 0.51<br>±0.031 | 0.48<br>±0.038       | 0.55<br>±0.033       | 0.58<br>±0.052        | 0.62<br>±0.031<br>a*  | 0.57<br>±0.02<br>a*, b*   | 0.55<br>±0.03<br>b*       | 0.56<br>±0.04<br>b*        |
| Triglycérides (g/l)      | 0.70<br>±0.03  | 0.71<br>±0.02        | 0.65<br>±0.02<br>a*  | 0.62<br>±0.021<br>a** | 0.56<br>±0.03<br>a**  | 0.63<br>±0.02<br>a**, b*  | 0.61<br>±0.06<br>a**, b*  | 0.64<br>±0.04<br>a**, b*   |
| Protéines totales (g/dl) | 6.41<br>±0.86  | 6.16<br>±0.58        | 6<br>±0.31           | 5.95<br>±0.12         | 7.34<br>±0.17         | 6.7<br>±0.34<br>b*        | 6.85<br>±0.51<br>b*       | 6.75<br>±0.38 b*           |
| ALAT (UI/L)              | 47.8<br>±2.47  | 51<br>±2.16          | 50.75<br>±1.70       | 52<br>±2.94           | 60.5<br>±3.10<br>a**  | 56.5<br>±2.08<br>a**, b*  | 54,75<br>±1.5<br>a**, b*  | 54,25<br>±3.59<br>a*, b*   |
| ASAT (UI/L)              | 149<br>±3.01   | 144<br>±3.25         | 143.25<br>±2.7       | 142<br>±2.58<br>a*    | 162<br>±2.6<br>a**    | 155.75<br>±2.98<br>a*, b* | 156.27<br>±2.09<br>a*, b* | 153.75<br>±4.27<br>a*, b*  |
| PAL (UI/L)               | 246.5<br>±5.06 | 237.5<br>±2.38<br>a* | 236.5<br>±2.38<br>a* | 236<br>±2.94<br>a*    | 261.5<br>±2.38<br>a** | 256.25<br>±2.21<br>a*, b* | 253<br>±3.91<br>b*        | 251.25<br>±2.62<br>b**, d* |
| Glycémie (g/l)           | 0.99<br>±0.1   | 1.16<br>±0.09        | 1.18<br>±0.05        | 1.27<br>±0.04<br>a*   | 1.39<br>±0.05<br>a**  | 1.16<br>±0.13<br>b**      | 1.22<br>±0.15<br>b**      | 1.15<br>±0.13<br>b**       |

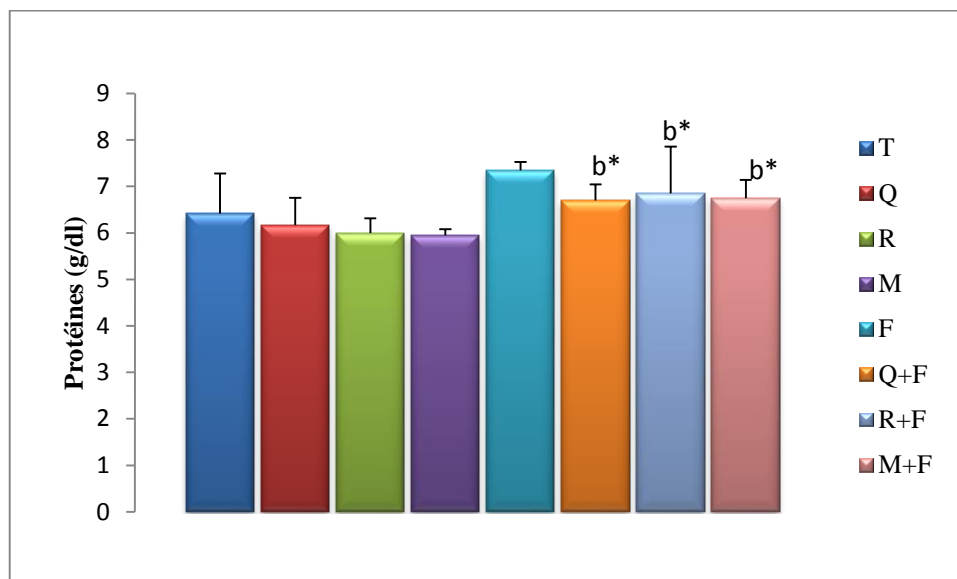
\*  $p < 0.05$  ; \*\*  $p < 0.01$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F ; d : M+F vs Q+F, n=7)



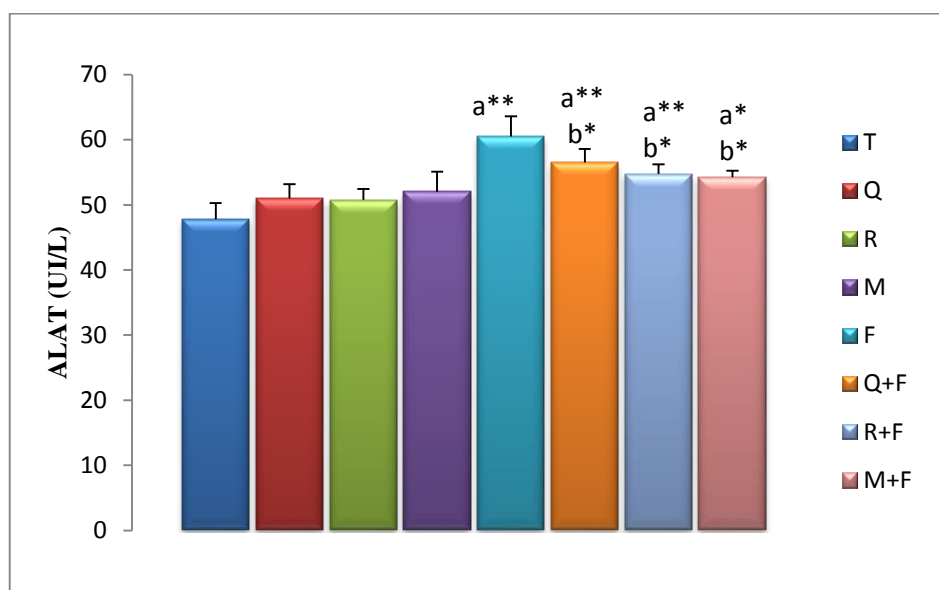
**Figure 13a.** Variation de la concentration du cholestérol chez les rats témoins et traités. \*  $p < 0.05$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F, n=7)



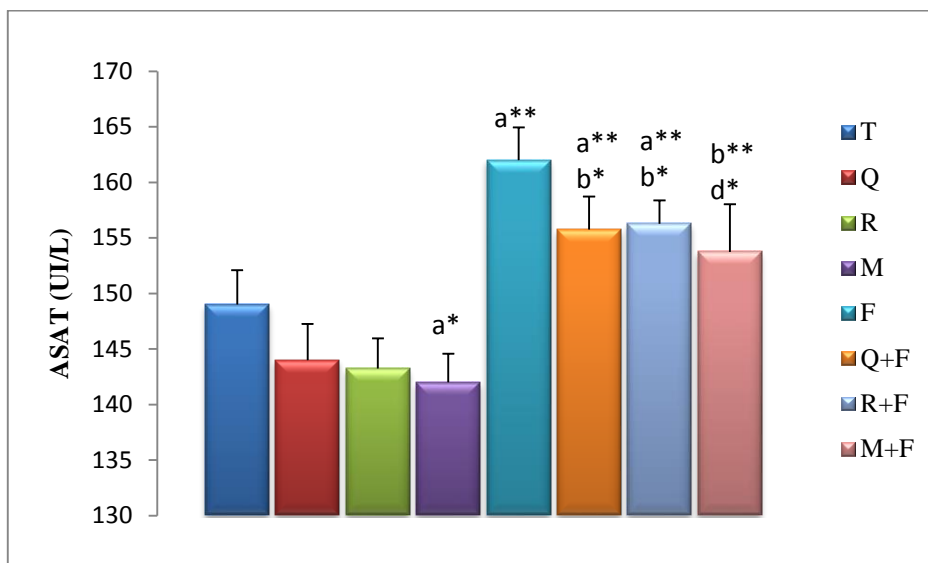
**Figure 13b.** Variation de la concentration des triglycérides chez les rats témoins et traités. \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F, n=7)



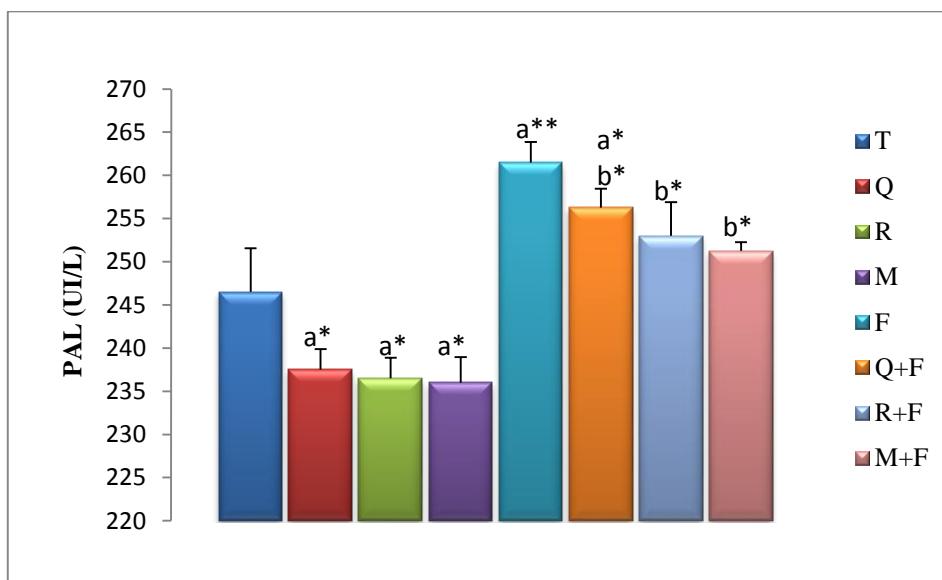
**Figure 13c.** Variation de la concentration des protéines totales chez les rats témoins et traités. \*  $p < 0.05$  (b : comparaison vs F, n=7).



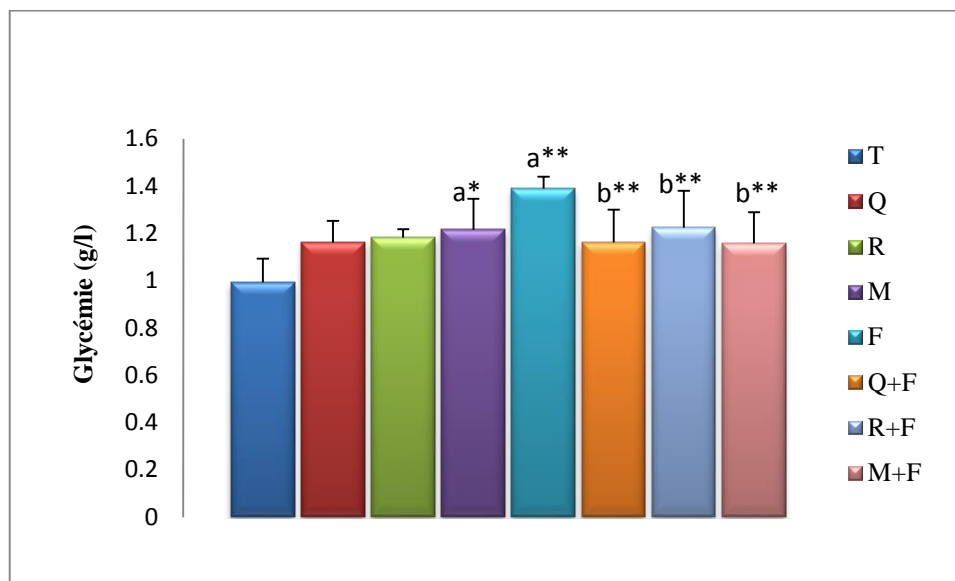
**Figure 13d.** Variation de l'activité des ALAT chez les rats témoins et traités. \*  $p < 0.05$  ; \*\*  $p < 0.01$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F, n=7)



**Figure 13e.** Variation de l'activité des ASAT chez les rats témoins et traités. \*  $p < 0.05$  ; \*\*  $p < 0.01$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F ; d : M+F vs Q+F, n=7)



**Figure 13f.** Variation de l'activité de la PAL chez les rats témoins et traités. \*  $p < 0.05$  ; \*\*  $p < 0.01$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F, n=7)



**Figure 13g.** Variation de la concentration du glucose chez les rats témoins et traités. \*  $p < 0.05$  ; \*\*  $p < 0.01$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F,  $n=7$ )

### 3.5. Variation de l'activité cholinestérasique et du stress oxydatif cérébral

Nos résultats montrent que les rats traités au fenthion montrent une diminution hautement significative ( $p < 0.001$ ) de l'activité cholinestérasique, cependant, le prétraitement à la quercétine, au resvératrol et au mélange a prévenu très significativement ( $p < 0.01$ ) cette diminution. Cette prévention a été plus importante par le prétraitement au mélange (Tableau 07; Figure 14a).

Concernant les paramètres du stress oxydatif, le lot traité au fenthion montre une diminution très significative ( $p < 0.01$ ) de la glutathion-s-transférase (GST), alors que le prétraitement à la quercétine et au resvératrol a montré une augmentation non significative. Intéressamment, le mélange a modulé significativement ( $p < 0.05$ ) cette diminution de la GST ou aucune différence statistique n'a été détectée vis-à-vis des témoins (Tableau 07; Figure 14b).

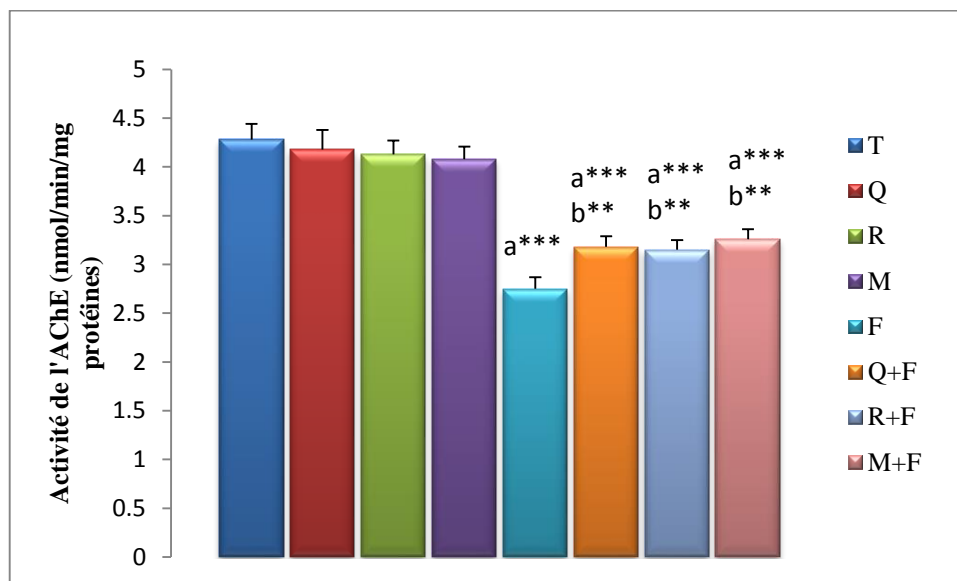
Le traitement au fenthion a provoqué une déplétion significative ( $p<0.05$ ) de la teneur en glutathion réduit (GSH). Le prétraitement à la quercétine, au resvératrol et au mélange a prévenu significativement cette diminution. Intéressamment, les rats traités au mélange a augmenté significativement la teneur en GSH (Tableau 07; Figure 14c).

Les rats traités au fenthion montrent une augmentation très significative ( $p<0.01$ ) du taux du MDA comparativement aux témoins. Cependant, un prétraitement à la quercétine, au resvératrol et au mélange a prévenu significativement cette augmentation (Tableau 07; Figure 14d).

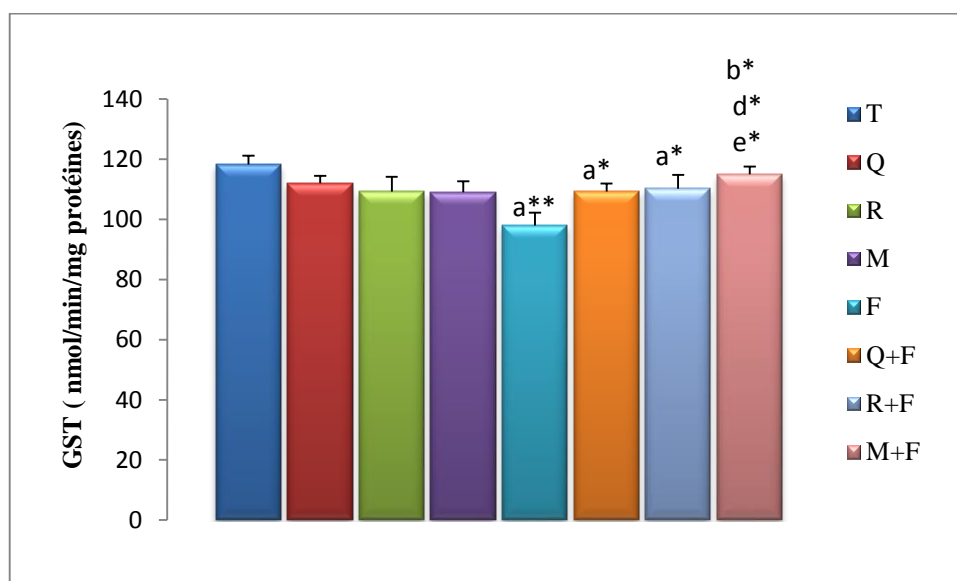
**Tableau 07.** Variation de l'activité cholinestérasique et du stress oxydatif cérébral chez les rats témoins et traités.

| Paramètres/<br>Lots                | T              | Q             | R              | M                    | F                     | Q+F                           | R+F                           | M+F                           |
|------------------------------------|----------------|---------------|----------------|----------------------|-----------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| AChE<br>(nmol/min/mg<br>protéines) | 4.28<br>±0.16  | 4,18<br>±0.20 | 4.13<br>±0.14  | 4.08<br>±0.13        | 2.75<br>±0.12<br>a*** | 3.18<br>±0.11<br>a***,<br>b** | 3.15<br>±0.15<br>a***,<br>b** | 3.26<br>±0.13<br>a***,<br>b** |
| GST<br>(nmol/min/mg<br>protéines)  | 120.1<br>±2.94 | 112<br>±2.44  | 109.25<br>±4.9 | 109<br>±3.65         | 98<br>±4.23<br>a**    | 109.25<br>±2.7<br>a*          | 110.25<br>±4.57<br>a*         | 115<br>±2.58<br>b*, d*,<br>e* |
| GSH<br>(nmol/mg<br>protéines)      | 20.25<br>±1.09 | 24.25<br>±1.8 | 24.75<br>±2.2  | 25.25<br>±2.21<br>a* | 15<br>±1.58<br>a*     | 18.3<br>±1.7<br>b*            | 18.05<br>±1.41<br>b*          | 19.18<br>±0.95<br>b*          |
| MDA<br>(nmol/mg<br>protéines)      | 3.97<br>±0.22  | 3.82<br>±0.17 | 3.72<br>±0.18  | 3.75<br>±0.23        | 5.52<br>±0.39<br>a**  | 4.75<br>±0.29<br>a**, b*      | 4.62<br>±0.27<br>a**, b*      | 4.52<br>±0.12<br>a**, b*      |

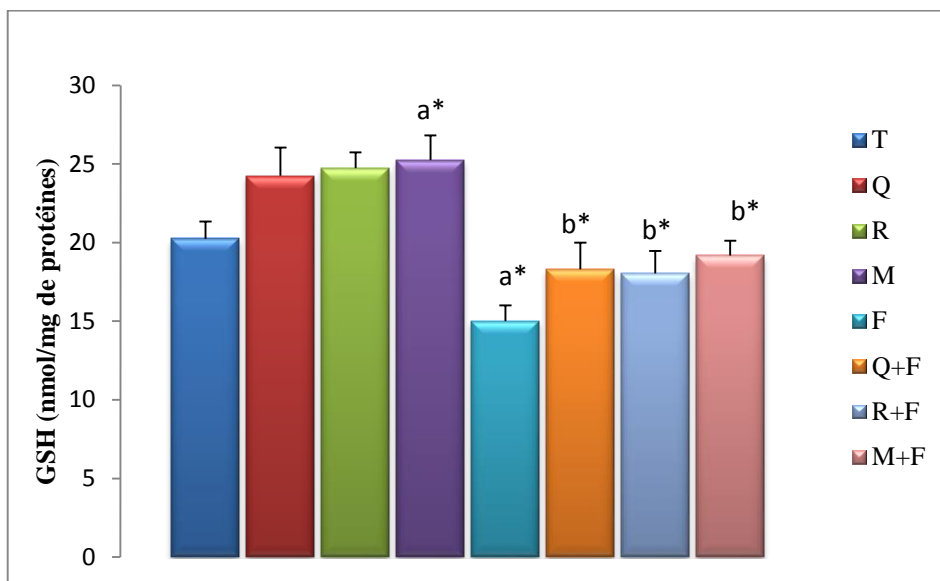
\*  $p<0.05$  ; \*\*  $p<0.01$  ; \*\*\*  $p<0.001$  ;(a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F ; d : M+F vs Q+F ; e : M+F vs R+F, n=7)



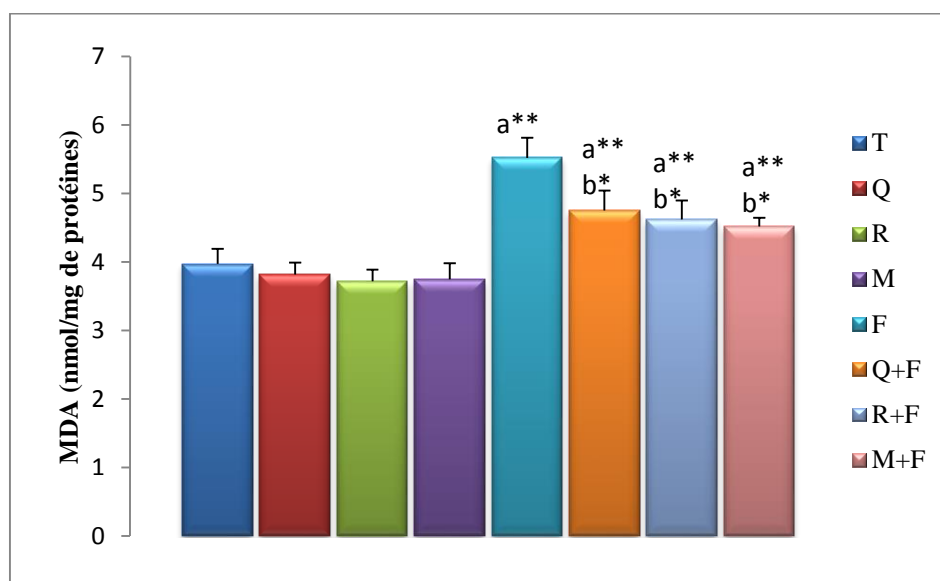
**Figure 14a.** Variation de l'activité de l'AChE chez les rats témoins et traités.  
 \*\*  $p < 0.01$  ; \*\*\*  $p < 0.001$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F, n=7)



**Figure 14b.** Variation de l'activité de la GST chez les rats témoins et traités.  
 \*  $p < 0.05$  ; \*\*  $p < 0.01$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F ; d : M+F vs Q+F ; e : M+F vs R+F, n=7)



**Figure 14c.** Variation de la teneur en GSH chez les rats témoins et traités. \*  $p < 0.05$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F, n=7)



**Figure 14d.** Variation du taux du MDA chez les rats témoins et traités. \*  $p < 0.05$  ; \*\*  $p < 0.01$  (a : comparaison vs T ; b : comparaison vs F, n=7)

# **DISCUSSION**

## 4. DISCUSSION

### 4.1. Effet du fenthion sur le statut cognitivo-comportemental et la neurochimie cérébrale

Les résultats de notre travail montrent que l'exposition à court terme au fenthion provoque des altérations neurocomportementales incluant une augmentation de l'anxiété, apparition des signes de dépression et une altération de l'activité locomotrice et exploratoire. L'apparition des altérations neurocomportementales constitue un signe important de la neurotoxicité des organophosphorés (**Wen-Qiang et al., 2011; Maha et al., 2013; Wen-Qiang et al., 2014**). La neurotoxicité est définie comme un changement structural ou une altération fonctionnelle du système nerveux, qui trouve son origine dans l'exposition à des agents physiques, biologiques ou chimiques (**Philbert et al., 2000**). Les effets neurotoxiques impliquent l'entrée de l'agent dans l'organisme, son interaction avec des cibles cellulaires spécifiques et l'initiation de changements biologiques menant à des altérations fonctionnelles du système nerveux (**Philbert et al., 2000**). Chez l'adulte, la neurotoxicité touche plus facilement le système nerveux périphérique car le système nerveux central est protégé d'une série d'agents chimiques par la barrière hémato-méningique (**Costa et al., 2004**). Cependant, certaines substances très petites ou lipophiles, telles que les OP sont susceptibles de passer cette barrière et d'atteindre le système nerveux central (**Costa et al., 2008**). Les études comportementales de modèles animaux sont d'une grande importance car elles permettent de détecter les différentes formes de neurotoxicité. En effet, la complexité organisationnelle et fonctionnelle des cellules du système nerveux central requise pour l'élaboration des comportements permet à de petites altérations de cette organisation d'être détectées par des tests neurocomportementaux, alors qu'elles peuvent passer inaperçues par des techniques de mesures moléculaires ou histologiques.

L'exposition aux organophosphorés a été rapportée à être associée à des troubles émotionnels comme l'anxiété et la dépression (**Landrigan et al., 1999; London et al., 2005; Lee et al., 2007**). Des études épidémiologiques ont rapporté la relation possible entre l'exposition aux OP et les troubles émotionnels tels que la dépression et l'anxiété. Il est également rapporté qu'il y avait une incidence plus élevée de la dépression et l'anxiété chez les agriculteurs par rapport à d'autres travailleurs (**Eisner et al., 1999; Roberts et Lee, 1993; Sanne et al., 2004**). Les études sur le modèle animal ont démontré les effets anxiogènes et dépressifs associés aux organophosphorés (**Maha et al., 2013; Wen-Qiang et al., 2014**).

Dans un cadre non pathologique, l'anxiété est un état de préparation cognitif et comportemental qu'un organisme se mobilise en réponse à une menace potentielle distante dans l'espace ou le temps. On parle alors d'état d'anxiété comme une réponse adaptative de grande vigilance qui permet à l'organisme de naviguer dans un environnement inconnu dans lequel un danger ou un stress est ressenti. Dans sa forme pathologique, l'anxiété est un état de mauvaise adaptation qui empêche l'organisme à répondre adéquatement à son environnement (**Leonardo et Hen, 2008**). Quelques tests comportementaux ont été mis au point afin de mesurer l'anxiété chez les rongeurs (rat et souris). Le labyrinthe en croix surélevé est couramment utilisé pour l'étude des comportements liés à l'anxiété chez les rongeurs (**Torres et Escarabajal, 2002**). L'expérience exploite le conflit chez les rongeurs entre la peur des espaces ouverts et le désir d'explorer un nouvel environnement. Les bras fermés représentent la sécurité, alors que les bras ouverts offrent une valeur exploratoire. Un animal anxieux aura naturellement tendance à préférer les espaces clos et sombres qu'aux espaces ouverts et éclairés. Partant de ce principe, l'anxiété comportementale est mesurée par le degré d'évitement des espaces ouverts du labyrinthe. Un temps court passé dans les bras ouverts est considéré comme un indice d'anxiété (**Onaivi et al., 1990; Lister, 1987; Pellow et al., 1985**).

D'après le test d'EPM, nous avons signalé une diminution du temps passé dans les bras ouverts et une augmentation du temps passé dans les bras fermés chez les rats traités au fenthion. La diminution de s'aventurer dans les bras ouverts dans le labyrinthe en croix surélevé est interprétée typiquement par une augmentation de l'anxiété (**Elliott et al., 2004**). Cela révèle de l'effet anxiogène du fenthion. Nous pensons par exemple au système gabaergique dont des perturbations du fonctionnement impliquent des troubles de l'anxiété (**Mohler, 2006; Domschke et Zwanzger, 2008**). Le système cholinergique est également connu pour jouer un rôle modulateur dans la régulation de l'anxiété (**File et al., 1998; Ouagazzal et al., 1999**). Selon ce point, la stimulation des récepteurs cholinergiques peut induire des réponses anxiogènes (**Olausson et al., 1999; Ouagazzal et al., 1999**). De plus, l'anxiété relative aux OP peut résulter du stress oxydatif cérébral et de la neuro-inflammation (**Chen, 2012**). Le changement de la concentration des neurotransmetteurs est aussi impliqué dans le développement des changements neurocomportementaux (**Oswal et al., 2012**). Dans la littérature, de nombreuses études ont montré les effets anxiogènes des OP comme le diazinon et le malathion (**Fabricio et al., 2005; Maha et al., 2013**). **Tayaa (2014)** a montré que l'exposition à court terme au diazinon provoque des effets anxiogènes chez la ratte Wistar. De plus, **Maha et al. (2013)** ont montré que l'exposition subchronique au diazinon montre des effets anxiogènes chez le rat mâle Wistar. L'exposition à court terme pendant 07 jours au malathion provoque des effets anxiogènes chez le rat Wistar. Intéressamment, la difficulté majeure associée à l'étude de la réponse anxiogène est de déterminer une forme spécifique de l'anxiété clinique qui peut être associée à un modèle animal particulier. Comme proposé par **Lister (1990)**, les réponses comportementales évaluées dans des tests tels que le labyrinthe en croix surélevé, qui comprennent une situation anxiogène temporaire, sont suggérées pour refléter des états d'anxiété transitoire plutôt qu'un trait lié à l'anxiété chronique. De plus, la stimulation cholinergique produite par des doses plus élevées pourrait

atteindre un seuil de stimulation qui contrecarre la réponse anxiogène et produit une réduction nette de l'anxiété comme dans le cas du malathion qui induit un effet anxiogène seulement à des doses faibles et moyennes (**Fabricio et al., 2005**). Le nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe montre une diminution significative par rapport aux témoins. Le nombre d'entrées dans les bras est généralement décrit comme un indice de locomotion (**Espejo, 1997**). Au niveau de l'open field, nous avons assisté à une diminution de la distance parcourue, diminution du nombre de redressements, diminution du temps passé dans la zone centrale et augmentation du temps passé dans la zone périphérique. L'OF est un test utilisé pour mesurer la motricité, le degré d'anxiété et la réaction émotionnelle (**Prut et Belzung, 2003**). Par conséquent, les rats anxieux ont tendance à passer plus de temps dans les coins et la périphérie de l'appareil plutôt que dans le centre (**Elizalde et al., 2008**). Nos résultats ont montré que les rats traités au fenthion ont passé plus de temps dans la périphérie. Ces résultats renforcent l'effet anxiogène du fenthion et corroborent l'observation précédente obtenue dans le test du labyrinthe en croix surélevé. La diminution de la distance parcourue dans l'open field révèle de la diminution de l'activité locomotrice. De plus, la diminution du nombre de redressements indique une dégradation de l'activité exploratoire. Ceux-ci corroborent l'hypomotricité notée au niveau du labyrinthe en croix surélevé. Nous pouvons conclure que le fenthion altère les capacités locomotrices et exploratrices du rat. L'acétylcholine intervient dans le contrôle des muscles par l'intermédiaire des terminaisons neuromusculaires. Apportée en excès au niveau de la plaque motrice, l'acétylcholine peut inhiber les contractions musculaires consécutives à la stimulation du nerf (**Bocquene, 1996**). Les OP exercent leur toxicité par la fixation de ses oxygènes analogues sur l'acétylcholinestérase (AChE), enzyme neuronale, provoquant ainsi une accumulation de l'acétylcholine endogène dans les tissus nerveux et les organes effecteurs (**Mayer et al., 1991**). En effet, l'accumulation de l'acétylcholine provoque des syndromes nicotiques qui associent des fasciculations

musculaires et des crampes, puis une asthénie rapidement croissante par atteinte de la plaque motrice évoluant vers la paralysie des muscles striés (**Bismuth, 1993**). En outre, l'anxiété et la dépression peuvent aggraver l'hypoactivité exploratoire et ambulatoire dans l'open field. Dans la littérature, aucune étude n'a investigué la réponse anxiogène des rats vis-à-vis du fenthion. Une seule étude a montré qu'une seule dose de 20 mg/kg de fenthion administrée par voie orale aux rats mâles adultes a diminué la motricité de 86% comparativement aux témoins (**Virginia, 1995**). En plus, **Benamara et al. (2014)** a montré que les rats prénatalement stressés au fenthion développent des altérations locomotrices. Ces études renforcent nos résultats issus de l'exposition subchronique par voie intrapéritonéale. **Tayaa (2014)** a montré que l'exposition subchronique au diazinon provoque une altération de la motricité chez la ratte Wistar. **Fabricio et al. (2005)** a montré aussi la capacité du malathion qui a diminué la motricité chez le rat.

Au niveau du test de la nage forcée nos résultats montrent clairement une augmentation du temps d'immobilité, indiquant une augmentation de la dépression. Le test de la nage forcée, ou le test de l'efficacité des antidépresseurs représente une situation aversive et stressante où le rat ne peut pas s'échapper et produit l'immobilité, comportement de désespoir (**Porsolt et al., 1977 ; Kirby et Lucki, 1997**). Chez les animaux, l'immobilité est interprétée comme un manque de volonté à survivre et considérée comme un signe de dépression chez la souris et le rat (**Porsolt et al., 1977; Petit-Demouliere et al., 2005**). Dans ce modèle, les rats ou les souris sont obligés de nager dans un espace confiné; après une tentative d'abord frénétique à s'échapper, ils prennent une posture immobile et le début de l'immobilité est beaucoup plus rapide suite à la nage ultérieure. Cet état a été nommé "désespoir comportemental" selon l'hypothèse de l'abondement des animaux l'espoir d'échappement (**Willner, 1990**). Bien que cette procédure est plus utilisée pour valider les médicaments

antidépresseurs (**Porsolt et al., 1977**), un modèle génétique de dépression (c'est à dire, Flinders rats) a également passé plus de temps immobile que les groupes de contrôle lors de l'évaluation dans la nage forcée (**Einat et al., 2002; Tizabi et al., 1999**). De plus, ce modèle a été utilisé pour étudier le comportement de type dépressif induit par l'interféron-alpha chez la souris (**Makino et al., 2000**). Des études cliniques ont signalé des symptômes dépressifs chez les résidents de la ferme (**Stallone et Beseler, 2002**) et même un risque accru de suicide dans les populations résidentes dans les zones d'agriculture (**Parron et al., 1996**). La dépression est un trouble fréquent et une principale cause d'invalidité et cause la mort à la fois par le suicide en raison des taux élevés de troubles psychiques (**Fritze, 1993**). En effet, Le mécanisme de la dépression est assez compliqué (**Garcia-Alloza et al., 2005**). Bien que la recherche psychobiologique sur la dépression traditionnellement concentré sur les neurotransmetteurs, la noradrénaline et la sérotonine (5-HT), le rôle de l'acétylcholine dans ce comportement émotionnel a été étudié. Certains éléments de preuve sur ce sujet suggèrent que le dysfonctionnement de la transmission cholinergique est impliqué dans la physiopathologie de la dépression (**Paykel, 2006**). Les mécanismes de neurotransmetteurs cholinergiques centraux ont été impliqués dans la pathogénèse des troubles dépressifs (**Fritze, 1993; Garcia-Alloza et al., 2005**) et il est reconnu que les individus souffrant des troubles dépressifs sont plus sensibles aux effets des agonistes muscariniques que les sains. D'autres facteurs sont aussi possibles, comme les facteurs comportementaux (comme le cas d'un facteur dépressogène) ou bien physiologiques (par exemple, l'élévation des hormones cortico-surrénales) (**Prathiba et al., 2000**). D'autres auteurs ont rapporté les crises dépressives associées au stress oxydatif induites aux OP (**Gupta, 2001**) ou encore l'action de cet OP comme un agoniste au M2 et/ou M4, sous-ensemble de récepteurs muscariniques dans le cortex préfrontal (**Ward et Mundy, 1996**). Des études récentes indiquent que les radicaux libres de l'oxygène et l'oxyde nitrique peuvent être impliqués dans la dépression en raison des

actions de ces molécules sur la fonction des cellules et le taux relativement élevé de la vulnérabilité du système nerveux central au stress oxydatif (**Herken *et al.*, 2007; Eren *et al.*, 2007**). Certaines études ont rapporté une corrélation positive entre le stress oxydatif et la dépression. Cependant, certains d'autres ont introduit l'hypothèse selon laquelle une inhibition de l'activité de l'enzyme  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATP-ase dans le cerveau est associée aux troubles de la dépression (**EI-Mallakh et Li, 1993; EI-Mallakh et Wyatt, 1995; Gamaro *et al.*, 2003**). La pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATP-ase est l'enzyme responsable du transport actif des ions de sodium et de potassium dans le système nerveux, le maintien et le rétablissement après chaque dépolarisation du gradient électrochimique nécessaire pour l'excitabilité neuronale et la régulation du volume des neurones. La physiopathologie de certains troubles psychiatriques est censée être associée avec une certaine perturbation de l'homéostasie ionique et des études antérieures ont montré que l'activité de l'enzyme  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATP-ase est diminuée chez les patients souffrant de la dépression et d'autres troubles psychiatriques (**Wood *et al.*, 1991**). Dans un modèle de dépression induite par le malathion, **Carmine *et al.* (2009)** ont démontré le rôle crucial de la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATP-ase cérébral dans le déclenchement de la dépression. Dans la littérature, Plusieurs études ont montré la potentialité dépressive des organophosphorés. **Tayaa (2014)** a démontré les effets dépressifs du diazinon suite à l'exposition à court terme chez la ratte Wistar. L'exposition pendant trois jours par voie intrapéritonéale à une faible dose de malathion provoquait des effets dépressifs chez le rat Wistar (**Carmine *et al.*, 2009**).

En plus de l'altération de la conduite neurocomportementale, l'inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase et l'apparition d'un stress oxydant cérébral ont été détectées. Au niveau cérébral, nos données montrent une diminution de l'activité cholinestérasique, du glutathion-s- transférase (GST), la déplétion de la teneur en glutathion réduit (GSH) et une augmentation du taux du malondialdéhyde (MDA). L'inhibition irréversible de l'ACHé par les

OP conduit à une accumulation de l'acétylcholine dans les synapses neuronales induisant un état de stress cholinergique et ainsi la dépréciation ultérieure de nombreuses fonctions du corps (**Bartling et al., 2007**). Selon **Tandon et al. (1994)**, les rats Lang-Evans adultes traités à une seule dose de fenthion (100mg/kg par voie sub-cutanée) ont montré une inhibition forte de l'activité de l'AChE au niveau du cortex préfrontal et rétinale, cette inhibition persistait significative même au jour 56 après le traitement aigu. Dans la même étude, la perte pondérale chez les rats restait en diminution durant la première semaine, ce qui révèle la persistance des effets du fenthion. Dans un modèle développemental, les rats prénatalement exposés au fenthion ont aussi montré une inhibition drastique de l'activité cholinestrasique cérébrale associée aux changements comportementaux, oxydatifs et histopathologiques (**Benamara et al., 2014**). Le stress oxydatif est une surcharge en oxydants causée par la production excessive des radicaux libres et/ou le déclin des mécanismes de défenses enzymatiques et non-enzymatiques. L'hyperproduction des radicaux libres pourraient conduire à des perturbations comportementales. Le cerveau est particulièrement vulnérable aux radicaux libres à cause de son taux mitotique faible, son besoin considérable en oxygène, sa richesse en acides gras polyinsaturés oxydables, son contenu élevé en fer et sa pauvreté en antioxydants (**Julka et Gill, 1996; Peker et al., 2010**). Le système des cellules du cerveau piégeant les ROS est particulièrement basé sur le glutathion réduit, une molécule contenant une fonction thiol endogène (**Raghavendra et Kulkarni, 2001**). La diminution du glutathion peut conduire à la peroxydation des lipides, la génération des peroxydes cytotoxiques lipidiques tels que le malondialdéhyde et le 4-hydroxy-2-nonéanal (HNE) dans le tissu cérébral et finalement une série de modifications du comportement neurologique (**Chakraborti et al., 2008**). Le GSH contribue efficacement à des mécanismes enzymatiques qui comprennent le glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion-S-transférase. Il a été rapporté que l'activité de la

GST est beaucoup plus élevée que celui de la GPx dans le cerveau, ce qui représente un bon indicateur de l'état d'oxydation neurocérébrale (**Carmagnol *et al.*, 1983**).

Bien entendu, le lien entre le stress oxydatif cérébral et les différents aspects de l'altération comportementale relative aux OP a été récemment déterminé (**Maha *et al.*, 2013**; **Chen, 2012**). Cette approche cognitivo-biochimique a activé beaucoup de chercheurs à investiguer cette relation avec d'autres xénobiotiques comme les perythrinoïdes et les métaux lourds (**Lonare *et al.*, 2014**; **Abdallah *et al.*, 2014**). Cependant, le rôle du stress oxydant cérébral, comme un facteur direct dans le déclenchement des perturbations neurocomportementales reste en recherche.

#### **4.2. Effet du fenthion sur les paramètres biochimiques**

Les résultats de notre travail montrent une augmentation de la glycémie chez les rats traités au fenthion. Plusieurs études ont indiqué que l'hyperglycémie est l'un des effets de l'intoxication aux OP dans le traitement aigu et l'exposition subchronique par la perturbation de la glycolyse et la néoglucogenèse. Il y a des rapports d'incidents de la glycosurie transitoire et l'hyperglycémie chez l'homme après une exposition aiguë aux OP (**Zadig *et al.*, 1983**; **Shobha et Prakash, 2000**). Le foie joue un rôle majeur dans l'homéostasie du glucose sanguin par le maintien d'un équilibre entre l'absorption et le stockage du glucose via la glycogénèse et la libération de glucose par glycolyse et la néoglucogenèse (**Hers, 1990**; **Nordlie *et al.*, 1999**; **Abdollahi *et al.*, 2003a, b**).

Les mécanismes affectant l'homéostasie du glucose ont été mis en recherche dans ces dernières années. La stimulation de la néoglucogenèse et la glycolyse hépatique est proposée comme un mécanisme responsable de l'hyperglycémie induite par les OP (**Abdollahi *et al.*, 2004**). Un autre mécanisme est l'activation de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien (HHS). L'activation de l'axe HHS par les OP entraîne la sécrétion de

glucocorticoïdes et ainsi une possible augmentation de la glycémie (**Rahimi et Abdollahi, 2007**). Dans la littérature, plusieurs études ont rapporté l'effet hyperglycémiant des OP. **Eman et al. (2013)** ont montré l'hyperglycémie induite suite à l'exposition subchronique au chlorpyrifos-ethyl. **Carmin et al. (2012)** ont montré l'hyperglycémie induite suite à l'exposition aiguë au chlorpyrifos-ethyl.

Dans notre travail, nous avons assisté à une augmentation du cholestérol, une diminution des triglycérides et une augmentation des protéines totales. Les OP augmentent généralement les niveaux du cholestérol et des lipides totaux (**Kalender et al., 2005; Ögütçü et al., 2008; Lasram et al., 2009**). L'augmentation cholestérol dans le sérum peut être attribuée à l'effet des pesticides sur la perméabilité de la membrane des cellules du foie (**Yousef et al., 2006**). En outre, l'augmentation des niveaux du cholestérol sérique total peuvent être dû à l'obstruction des canaux biliaires du foie, ce qui réduit ou arrête la sécrétion du cholestérol dans le duodénum (**Zaalouk et al., 2000; Ögütçü et al., 2008**). L'augmentation du taux de cholestérol sérique peut être un signe de dommages du foie. Certains pesticides diminuent également le taux de triglycérides (**Kalender et al., 2005; Ögütçü et al., 2008**). Il a été démontré que les maladies parenchymateuses du foie sont associées à une diminution des taux de triglycérides (**Kalender et al., 2005**). L'augmentation du cholestérol total associé à la diminution des triglycérides constitue un signe du métabolisme des acides gras et de l'apparition de la peroxydation lipidique (**Mongi et al., 2011**). Les changements de niveau de protéines totales sont basés sur la fonction de l'albumine et la proportion des globulines qui pourraient varier selon le statut d'immunocompétence des animaux ou d'autres conditions physiopathologiques (**Petterino et Argentino-Torino, 2006**). L'augmentation de protéines totales est due à la stimulation des fonctions hépatiques étant que le foie est le site du métabolisme intense, de détoxification, stockage des protéines et autres fonctions (**Hodgson, 2004**). L'augmentation des protéines totales dans le groupe traité peut être due soit à la

production d'enzymes perdues à la suite d'une nécrose des tissus, soit pour répondre à la demande accrue de détoxification du pesticide liée à l'augmentation de la synthèse de protéines enzymatiques (**Gill et al., 1990 ; Gill et al., 1991**). L'exposition subchronique au chlorpyrifos a augmenté significativement les protéines totales (**Tarek et al., 2013**). Cependant, **Gokce Uzun et Kalender (2013)** ont montré que le chlorpyrifos provoque une diminution nette des protéines totales chez les rats Wistar. Les enzymes sériques, y compris la phosphatase alcaline (ALP) et les transaminases (ALT, AST) sont principalement utilisés pour déterminer le dysfonctionnement hépatique et les dommages hépatotoxiques (**Mansour et Mossa, 2010; UzunHisarcik et Kalender, 2011**). Dans notre étude, les rats traités au fenthion ont montré une augmentation de l'activité plasmatique des transaminases et de la phosphatase alcaline. Les organophosphorés peuvent provoquer l'augmentation de l'activité des AST, ALP et ALT (**Sharma et al., 2005**). La perturbation de la fonction de transport des hépatocytes en tant que résultat d'une lésion hépatique provoque la fuite d'enzymes à partir de cellules en raison d'une altération de la perméabilité membranaire (**Fan et al., 2009**). Cette augmentation indique aussi la présence d'une nécrose et des réactions inflammatoires (**Kuzu et al., 2007; Navarro et al., 1993**). Plusieurs études ont rapporté la perturbation des transaminases et de la phosphatase alcaline suite à l'exposition aux organophosphorés (**Tarek et al., 2013 ; Gokce Uzun et Kalender, 2013**). Selon **Kerem et al. (2007)**, une seule dose de 25 mg/kg par voie i.p de fenthion augmente significativement l'activité des transaminases avec des changements histologiques au niveau rénal chez les rats mâles adultes.

#### **4.3.2. Effet du fenthion sur les paramètres immunitaires**

Plusieurs études ont montré que les insecticides organophosphorés peuvent induire des changements immunitaires chez les animaux de laboratoire (**Kalender et al., 2006**). Dans le travail présent, nous avons assisté à une leucocytose chez les rats traités au fenthion. L'hématopoïèse est la formation de composants sanguins cellulaires à partir de cellules

souches hématopoïétiques qui se trouve dans la moelle osseuse. La moelle osseuse contient également les tissus adipeux qui ont une capacité de stockage élevée et peuvent accumuler les composés lipophiles comme les xénobiotiques (**Merhi et al., 2010**). L'augmentation des leucocytes totaux chez les rats peut indiquer une activation des mécanismes de défense du système immunitaire. Ces changements sont aussi liés à l'augmentation plasmatique de l'activité des ALP, AST, ALT (**Elhalwagy et al., 2008**). En outre, La leucocytose détectée chez des rats exposés aux pesticides peut être due à la libération des catécholamines, hormones de stress, ce qui provoque la démargination des neutrophiles qui est souvent accompagnée par une lymphocytose et parfois par monocytose et éosinophilie (**Kandil et al., 2006; Jain, 1993**). L'augmentation des lymphocytes et des monocytes est due peut être à la stimulation de la lymphopoïèse et à la libération accrue des lymphocytes de la lymphe du tissu myéloïde (**Das et Mukherjee, 2003**). Une telle réponse des lymphocytes pourrait être due à la présence de substances toxiques associée à la lésion tissulaire induite par le polluant et la grave perturbation du système immunitaire non spécifique, aboutissant à l'augmentation de la production des leucocytes. Une diminution du pourcentage de neutrophiles dans le sang périphérique observée chez les rats traités au fenthion peut suggérer que les neutrophiles sont impliqués dans la phagocytose au cours d'une intoxication aux xénobiotiques, au cours de laquelle certains neutrophiles pourraient être rompus. Selon des études sur les êtres humains (hommes et femmes) participant à la production de pesticides liquides, une diminution significative a été notée dans le nombre de neutrophiles (**Klucinski et al., 1996**). Plusieurs travaux ont rapporté la capacité des OP à induire la lymphocytose (**Handy et al., 2002 ; Elsharkawy et al., 2013 ; Omya, 2012 ; Lasrama et al., 2014**). Il a été rapporté que l'augmentation des taux des lymphocytes est corrélée avec l'augmentation des cytokines pro-inflammatoires (**Lasrama et al., 2014**). Les cytokines possèdent un large éventail de fonctions, y compris la capacité à activer les macrophages, promouvoir le recrutement des

leucocytes, stimuler des cellules B et la différenciation des lymphocytes T et la perméabilité vasculaire accrue (**Banks et Lien, 2012**). Intéressamment, La présence d'une inflammation peut aggraver la dépression, la neuro-inflammation est également signalée à influencer les fonctions neuronales dans la physiopathologie de la dépression (**Maes, 2008**). Des études cliniques récentes décrivent que les patients observés avec le comportement de la dépression ont été trouvés à des niveaux significativement plus élevés de marqueurs inflammatoires (**Krogh et al., 2013; Lindqvist et al., 2013**). Une autre étude confirme que les symptômes neuropathiques de la dépression liés à la douleur ont été accompagnés par des changements dans l'expression des gènes dans les régions neuro-inflammatoires du cerveau (**Burke et al., 2013**). Les cytokines inflammatoires peuvent altérer les processus métaboliques, des facteurs neurotrophiques, provoquent l'excitotoxicité glutamatergique et l'apoptose (**Hayley et al., 2005; Maes, 2008**). Les cytokines pro-inflammatoires sont produites par des cellules de la microglie, les astrocytes, les neutrophiles et les macrophages et augmentent l'inflammation et les réponses immunitaires ultérieures. En outre, les cytokines inflammatoires sont connues pour exacerber la mort cellulaire, l'atteinte de neurones et causent une neurodégénérescence (**Patel et al., 2006**).

#### **4.4. Effet de la quercétine**

D'après nos résultats, la quercétine a prévenu la dépression et l'anxiété induite par le fenthion. Parmi les mécanismes par lesquels la quercétine produit ces effets est la modulation des systèmes associés à l'anxiété et à la dépression comme le système gabaergique, le système sérotoninergique, le système cholinergique, le statut oxydatif cérébral et l'activité de la pompe  $Na^+/K^+$  (**Cao et al., 1997; Abdallah et al., 2014**). Plusieurs études ont démontré le rôle anxiolytique-like et antidépresseur-like de la quercétine. (**Kumar et Goyal, 2008 ; Vissiennon et al., 2012**). Les flavonoïdes sont des composés possédant une large gamme d'activité biologique, y compris les propriétés antioxydantes, anxiolytiques et anticonvulsives

(Cao *et al.*, 1997; Williams *et al.*, 2004 ; Karim *et al.*, 2011). Les effets des flavonoïdes sur le système nerveux peuvent impliquer plusieurs cibles, y compris les récepteurs synaptiques canaux ioniques (Elliott *et al.*, 1992; Goutman *et al.*, 2003). Les récepteurs GABA sont des cibles pharmacologiques de divers produits naturels comme les flavonoïdes (Hanrahan *et al.*, 2011). La modulation des récepteurs GABA<sub>a</sub> est exercée par les flavonoïdes à travers les différents sites et mécanismes d'action (Dekermendjian *et al.*, 1999; Gavande *et al.*, 2011). Sun *et al.* (2007) ont bien démontré chez un modèle murin de vieillissement que le traitement chronique à la quercétine prévient les changements ambulateurs dans l'OF. L'ensemble de nos données comportementales indiquent un effet anxiolytique de ce flavonoïde et mettent l'accent sur sa capacité potentielle d'atténuer l'effet anxiogène du fenthion. Notre constatation est en accord avec celle de Priprem *et al.* (2008) rapportant l'effet anxiolytique de la quercétine à forte dose (300 mg/kg) par voie nasale chez le rat. D'autre part, la quercétine peut être utilisée comme un agent antioxydant *in vivo* chez des sujets humains (Boots *et al.*, 2008a). Ces effets ont été signalés à être plus évident lorsque le niveau de base du stress oxydatif est élevé, ce qui indique que l'administration de la quercétine pourrait être une approche thérapeutique utile pour le traitement de processus pathologiques connexes (Boots *et al.*, 2008b). En effet, la relation entre l'effet antioxydant et anxiolytique a été confirmé dans plusieurs travaux (Toumi *et al.*, 2014; Merzoug *et al.*, 2014). Amit *et al.* (2012) ont suggéré que l'effet anxiolytique de la quercétine via sa potentialité antioxydante est due peut être à ses propriétés structurales. Plusieurs travaux ont rapporté l'effet anxiolytique de la quercétine dans plusieurs modèles animaux (Abdallah *et al.*, 2014; Toumi *et al.*, 2014; Merzoug *et al.*, 2014). L'hypoactivité des rats traités au fenthion a été bien modulée par la quercétine. La quercétine a modulé clairement l'altération motrice dans plusieurs modèles pathologiques, cet effet modulateur a été attribué à son effet sur la neurotransmission cholinergique (Amit *et al.*, 2012; Diego *et al.*, 2014). Les précédents

rapports pharmacologiques ont mentionné l'effet antidépresseur de ce flavonoïde. Ainsi, **Bhutada et al. (2010)** ont suggéré que la quercétine pourrait avoir un tel effet, en ce sens que son administration chez la souris a réduit le temps d'immobilité, une action semblable à celle produite par la fluoxétine. Il est désormais intéressant de mentionner que les flavonoïdes pourraient traverser la barrière hémato-encéphalique (**Shimmyo et al., 2008**). Il a été constaté que la quercétine en supplémentation atténue la contrainte qui induit la dépression comportementale en inhibant le facteur de libération de corticotrophine (CRF), l'expression d'ARNm dans l'hypothalamus (**Kawabata et al., 2010**). **Terdhati et al (2010)**, ont suggéré que l'effet antidépresseur de la quercétine pourrait être due à son effet inhibiteur des monoamines oxydase, à l'augmentation de la sérotonine et de l'activité gabaergique. La quercétine a modulé la dépression induite par le diabète chez la souris (**Anjaneyulu et al., 2003**). La quercétine a clairement allégé le statut oxydatif cérébral et modulé l'activité cholinestérasique. Plusieurs travaux ont apprécié le rôle de la quercétine comme piègeur des ROS (**Gokce Uzun et Kalender, 2013; Abdallah et al., 2014; Merzoug et al., 2014**).

La modulation du système immunitaire par la quercétine a été le sujet de plusieurs études récentes (**Lin et al., 2011**). Il a été démontré que la quercétine augmentait aussi bien le nombre de leucocytes totaux chez des souris irradiées aux rayons UV que le nombre de lymphocytes périphériques chez des patients soumis à la radiothérapie (**Fahlman et Krol., 2009; Taj et Nagarajan, 1996**). De plus, les flavonoïdes stabilisent les membranes plasmiques des hématies et inhibent leur hémolyse dans les solutions hypotoniques (**Chaudhuri et al., 2007; Pawlikowska-Pawlega et al., 2003**). Par ailleurs, un rapport récent a mis l'accent sur la capacité de la quercétine à moduler l'activité intracellulaire des monocytes en modifiant le taux de transcription d'un grand nombre de gènes ayant un rôle dans l'hématopoïèse et la réponse immunitaire (**Boomgaarden et al., 2010**). La quercétine, module de façon critique les processus inflammatoires et les fonctions immunitaires et ceux-ci ont été

largement examinés (**Kandaswami et Middleton, 1994; Middleton, 1998**). Sa principale activité antivirale comprend l'élimination ou le blocage de la réplication virale dans les cellules infectées, la promotion de la croissance et la survie des cellules T, l'inhibition de l'activation des macrophages et de suppression des Th-1 des cellules. Des études récentes montrent que l'IL-4 et IFN $\gamma$  jouent un rôle important dans la régulation des réponses immunitaires par leurs mécanismes antagonistes (**Paludan, 1998**). Bien que des études antérieures suggèrent que la quercétine présente une capacité anti-tumorale significative, les propriétés anti-virales, allergiques et anti-inflammatoires, (**Aviram et Fehrman, 2002**). **Madhavan et al. (2002)** suggèrent que la quercétine module la réponse du système immunitaire via la modulation de la production des cytokines.

D'après nos résultats, la quercétine a allégé les changements aux niveaux des métabolites et des transaminases. Plusieurs études ont rapporté la capacité de la quercétine à prévenir la perturbation des métabolites et des transaminases (**Fatma et Yusuf, 2013; Hou et al., 2014**). Récemment, La capacité de la quercétine à moduler l'activité des gènes paraoxonase (PON) a été impliquée dans l'atténuation de la toxicité des xénobiotiques (**Mamatha et al., 2010; Lucio et al., 2014**). Les paraoxonases sont une famille comportant trois gènes (PON1, PON2, PON3), qui sont dotées de nombreuses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et neuroprotectrices (**Primo- Parmo et al., 1996; Lucio et al., 2014**).

#### **4.5. Effet du resvératrol**

Les résultats de notre étude montrent que le resvératrol module les changements neurocomportementaux induits par le fenthion. Le resvératrol (3,4,5-trihydroxy-trans-stilbène) est produit naturellement dans le raisin et une variété de plantes médicinales. Il possède des activités biologiques multiples (**Lastra et Villegas, 2005; Delmas et al., 2005**).

Les effets neuroprotecteurs du resvératrol ont été spécifiquement étudiés sur plusieurs voies, qui peuvent être due à ses propriétés anti-oxydantes et promotrices de monoxyde nitrique (**Sinha et al., 2002; Wang et al., 2008; Kiziltepe et al., 2004**). Récemment, Il a été rapporté que le resvératrol peut réguler l'expression du récepteur GABA<sub>a</sub> et que cette régulation pourrait être l'une des actions pharmacologiques du resvératrol sur le système nerveux (**Lee et al., 2013**). La modulation des récepteurs GABA<sub>a</sub> été rapportée avec l'action anxiolytique (**Jane et al., 2011**). Dans plusieurs modèles pathologiques, le resvératrol a été rapporté pour améliorer les déficits neurocognitifs (**Fillipos et al., 2011**). Selon **Ying et al. (2010)**, l'action antidépresseur du resvératrol pourrait être due à l'activation des voies sérotoninergiques et noradrénergiques. Des études antérieures ont indiqué que le trans-resvératrol inhibe la monoamine oxydase (MAO), et l'activité des isoformes dans les cellules gliales C6 (**Mazzio et al., 1998**). Les MAO, isoenzymes mitochondriales qui catalysent la désamination oxydative des amines alimentaires et des neurotransmetteurs monoamines, telles que la 5-HT, la noradrénaline, la dopamine et d'autres amines traces. Le développement d'inhibiteurs de la MAO a conduit à d'importantes percées dans les thérapies pour plusieurs troubles neuropsychiatriques allant de troubles de l'humeur à la maladie de Parkinson (**Bortolato et al., 2008**). Des études récentes ont démontré que le resvératrol est un inhibiteur de la noradrénaline et l'activité d'absorption de 5-HT chez le rat (**Yanez et al., 2006a**).

Certaines études ont rapporté une corrélation positive entre le stress oxydatif et la dépression, en outre, la normalisation des marqueurs de stress oxydatif avec un traitement antidépresseur a été également démontrée (**Herken et al., 2007**). Les médicaments ayant une action antioxydante potentielle pourraient être une cible intéressante pour le traitement des troubles dépressifs. Les effets bénéfiques de la consommation modérée du vin rouge sur le stress oxydatif et de la cognition ont été attribués à la présence des composants antioxydants (**Tredici et al., 1999**). Le trans-resvératrol, qui est présent dans le raisin et le vin exerce de

nombreuses activités biologiques. Le resvératrol a été rapporté comme un bon piègeur des ROS (**Zhang et al., 2013; Yazir et al., 2015**). Récemment, le trans-resvératrol a reçu une attention pour ses effets protecteurs importants sur le système nerveux, telles que la dégénérescence des axones après une lésion retardée et la protection contre l'ischémie cérébrale chez les rongeurs (**Dasgupta et Milbrandt, 2007**). Il est en cours d'évaluation dans des essais cliniques chez des patients atteints de la maladie d'Alzheimer en raison de ses effets neuroprotecteurs prometteurs. Des concentrations élevées de trans-resvératrol ont été enregistrées dans le cerveau après l'administration orale, ce qui suggère qu'il est capable de traverser la barrière hémato-encéphalique après l'administration orale (**Vitrac et al., 2003; Vente et al., 2004**). En addition, la modulation de l'activité cholinestérasique et l'amélioration des capacités cognitives ont été récemment déterminées (**Gacar et al., 2011; Yazir et al., 2015**). **Sudhanshu et al. (2014)** ont démontré que la modulation de l'activité de la pompe  $Na^+/K^+$  est impliqué dans l'atténuation des déficits cognitifs.

Le prétraitement au resvératrol a prévenu les changements des populations leucocytaires, les métabolites et l'activité plasmatique des transaminases et de la phosphatase alcaline. L'effet modulateur du resvératrol contre les variations immunitaires a été déterminé (**Martinez et al., 2000**). La plupart des études qui s'intéressent à l'immunomodulation du resvératrol se focalisent sur son effet anti-inflammatoire et sa capacité à atténuer l'activité du système immunitaire (**Das et Das, 2007**). **Leiro et al. (2002)** ont démontré l'efficacité du resvératrol à inhiber l'hyperréactivité des macrophages permettant ainsi son application préventive dans plusieurs cas pathologiques. Dans un modèle diabétique de type II, **Zheng et al. (2013)** ont montré la capacité du resvératrol à moduler les facteurs pro-inflammatoires incluant IL-1 $\beta$ , IL6 et TNF- $\alpha$ . De plus, le rôle modulateur du resvératrol a été démontré contre l'immunotoxicité du fluorure, ainsi que la variation des métabolites et des transaminases associée (**Atmaca A et al., 2014**).

#### 4.6. Effet du mélange

Bien que le rôle protecteur de la quercétine et du resvératrol soit le bien documenté, l'effet de leur mélange compte moins d'études. Selon nos résultats, les rats prétraités au mélange ont montré une amélioration des changements par rapport aux rats non-prétraités. Cependant, **Schlachterman et al. (2008)** ont démontré l'efficacité de l'effet combiné de la quercétine et du resvératrol contre la tumeur des seins chez la souris. L'amélioration de l'efficacité est due peut être à l'augmentation des potentialités anti-oxydantes et anti-inflammatoires. Récemment, **Kaleb et Traci (2014)** ont démontré *in vitro* que la combinaison entre la quercétine et le resvératrol augmente l'absorption intestinale de ces deux molécules en l'occurrence pour le resvératrol et ainsi une meilleure biodisponibilité, ce qui augmente les propriétés pharmacologiques des polyphénols. L'effet synergique du resvératrol a été démontré *in vitro* avec la catéchine contre la toxicité de la B-amyloïde (**Conte et al., 2003**). Dans le même sens, **Arya et al. (2014)**, ont démontré le rôle protecteur du mélange de la quercétine et de l'acide quinique contre les altérations biochimiques et histopathologiques dans un modèle diabétique chez le rat Wistar. Dans cette optique, l'utilisation du mélange des molécules bioactives a permis d'augmenter leurs effets pharmacologiques bénéfiques, cependant, les mécanismes responsables de ce processus interactif reste encore inconnu et une panoplie de recherches semblent être intéressants en vue de démasquer l'effet synergique entre les polyphénols.

## **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

## 5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Nous pouvons conclure que l'exposition répétée pendant dix jours consécutifs au fenthion à raison de 20mg/kg de poids corporel chez les rats mâles adultes de la souche Wistar provoque des réponses anxio-dépressives associées à des altérations de l'activité exploratoire et ambulatoire. Ces perturbations neuro-comportementales sont associées, d'une part, à l'inhibition cholinestérasique et au développement d'un stress oxydatif cérébral, et d'autre part, à la perturbation des paramètres immunitaires et biochimiques. Par ailleurs, Le pré-traitement par les deux polyphénols (quercétine, resvératrol et leur mélange) a allégé les comportements anxio-dépressifs et l'altération de l'activité exploratoire, l'inhibition cholinestérasique, le désordre oxydatif cérébral et la variation des paramètres immunitaires et biochimiques.

A partir de ces résultats, il serait intéressant de dégager les perspectives suivantes :

- Evaluer les réponses comportementales dans un modèle de toxicité aiguë
- Investiguer les performances mémoratives dans le test aquatique de Morris
- Etudier l'activité de la pompe  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  cérébrale et la variation des cytokines pro-inflammatoires
- Etablir un modèle de neurotoxicité développementale et apprécier l'effet sur la progéniture
- Apprécier le rôle neuro-protecteur des autres molécules bioactives comme : La curcumine, le lycopène, l'astaxanthine, l'acide rosmarinique,... etc.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

**Abdallah FH, Schmatz R , Cardoso AM , Carvalho FB. Baldissarelli J, Oliveira JS et al. 2014.** Quercetin protects the impairment of memory and anxiogenic-like behavior in rats exposed to cadmium: Possible involvement of the acetylcholinesterase and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase activities. *Physiology & Behavior* 135: 152–167

**Abd-Elnassaer M.1995.** Immunotoxic response of female Balb/c mice to diazinon, carbofuran and permethrin insecticides. *Assiut Veterinary Medical Journal* 32: 207–215.

**Abdollahi M, Soleimani F, Kangarlou S. 2003b.** A review on blood glucose variations and affecting parameters. *Middle East Pharmaceutical* 11: 6–10.

**Abdollahi M, Chan TS, Subrahmanyam V, O'Brien PJ, 2003a.** Effects of phosphodiesterase 3,4,5 inhibitors on hepatocyte cAMP levels, glycogenolysis, gluconeogenesis and susceptibility to a mitochondrial toxin. *Molecular and Cellular Biochemistry* 25: 205–211.

**Abdollahi M, Donyavi M, Pournourmohammadi S, Saadat M. 2004.** Hyperglycemia associated with increased hepatic glycogen phosphorylase and phosphoenolpyruvate carboxykinase in rats following sub chronic exposure to malathion. *Comparative Biochemistry Physiology* 137: 247–343.

**Abu-Qare AW et Abou-Donia MB. 2001.** Combined exposure to sarin and pyridostigmine bromide increased levels of rat urinary 3-nitrotyrosine and 8-hydroxy-20-deoxyguanosine, biomarkers of oxidative stress. *Toxicology Letters* 123 (1): 52-58.

**Aguirre-Hernandez E, Gonzalez-Trujano ME, Martinez AL, Moreno J, Kite G, Terrazas T, Soto-Hernandez M. 2010.** HPLC/MS analysis and anxiolytic-like effect of quercetin and kaempferol flavonoids from *Tilia Americana* var. *mexicana*. *Journl of Ethnopharmacol* 127:91-7.

**Ahmed RF, Abdel-Rahman RF, Farid OAHA, El-Marasy SA, Hessin AF.2014.** Combined hepatoprotective and antidepressant effects of resveratrol in an acute model of depression. *Bulletin of Faculty of Pharmacy* 52: 191-197

**Akbay P, Basaran AA, Undeger U, Basaran N. 2003.** In vitro immunomodulatory activity of flavonoid glycosides from *Urtica dioica* L. *Phytotherapy Research*; 17:34-37

**Alluwaimi AM, Hussien Y, Abu Elzein EM. 2001.** Cytokine levels in mice intoxicated with diazinon. *Alexandria Journal Veterinary Science* 17: 199–204.

**Amirkabirian N, Teimouri F, Esmaily H, Mohammadirad A, Aliahmadi A et Abdollahi M. 2007.** Protection by pentoxifylline of diazinon induced toxic stress in rat liver and muscle. *Toxicology and Mechanisms Methods* 17(4): 215–221.

**Amit DK, Kiran S, Raygude V, Kumar S, Anuchadra R, Visnagri A, Arvindkumar EG, Ghosh P, Badole SL, Bodhankar SL. 2012.** Ameliorative effects quercetin against impaired motor nerve function, inflammatory mediators and apoptosis in neonatal streptozotocin-induced diabetic neuropathy in rats, *Biomedicine & Aging Pathology* 173–186.

**Amr MM, Halim ZS, Moussa SS. 1997.** Psychiatric disorders among Egyptian pesticide applicators and formulators, *Environmental Research* 73 (1–2): 193–199.

**Anjaneyulu M, Chopra K, Kaur I. 2003.** Antidepressant activity of quercetin, a bioflavonoid, in streptozotocin-induced diabetic mice. *Journal Medical Food* 6 (4):391-5.

**Ansari MA, Abdul HM, Joshi G, Opii WO, Butterfield DA. 2009.** Protective effect of quercetin in primary neurons against A $\beta$ (1–42): relevance to Alzheimer's disease. *Journal of Nutrition and Biochemistry*: 20:269–275.

**Arya A, Mazen MJA, Nayyar S, Mohamed IBN, Chung YL, Won FW, Si LK, Mohd R M. 2014.** Synergistic effect of quercetin and quinic acid by alleviating structural degeneration in the liver, kidney and pancreas tissues of STZ-induced diabetic rats: A mechanistic study. *Food and Chemical Toxicology* 71:183–196

**Atmaca A, Ebru Y, Bayram G, Ruhi K, and Fatih Sultan B. 2014.** Effect of Resveratrol on Hematological and Biochemical Alterations in Rats Exposed to Fluoride. *Biomedecine Research International*: 1-5

**Atmaca N, Atmaca H.T, Kanici A, Antepioglu, A. 2014.** Protective effect of resveratrol on sodium fluoride-induced oxidative stress, hepatotoxicity and neurotoxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology* 70:191–197

**Aviram M, Fuhrman B. 2002.** Wine flavonoids protect against LDL oxidation and atherosclerosis, *Annals New York. Academy Sciences* 957:146–161.

**Bajgar J. 2004.** Organophosphates/nerve agent poisoning: mechanism of action, diagnosis, prophylaxis, and treatment. *Advances Clinical Chemistry* 38:151–216.

**Baker HJ, Lindsey JR, Weisbroth SH (eds). 1980.** *The Laboratory Rat, Vol. II, Research Application.* Academic Press; New York, NY.

**Banks CN, Lein PJ, 2012.** A review of experimental evidence linking neurotoxic organophosphorus compounds and inflammation. *Neurotoxicology* 33: 575–584.

**Barnett JB, Spyker-cranmer JM, Avery DL, Hoberman AM. 1980.** Immunocompetence over the life span of mice exposed in utero to carbofuran or diazenon. I. Changes in serum immunoglobulin concentrations. *Journal Environmental Pathology Toxicology* 4: 53–63.

**Bartling A, Worek F, Szinicz L, Thiermann H. 2007.** Enzyme-kinetic investigation of different sarin analogues reacting with human acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *Toxicology* 233: 166–172.

**Baur , DA.2006.** Sinclair, Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence, behavioral variables in the adult mouse. *Neurotoxicology* 11: 345-354.

**Bavaresco L. 2003.** Role of viticultural factors on stilbene concentrations of grapes and wine. *Drugs Experimental Clinical Research* 29:181-197.

**Benmara I, Sifi M, Troudi A, Soudani N, Boudawara T, Zeghal N.2014.** Fenthion, an organophosphorus pesticide, induces alterations in oxydant/antioxydant status and histological disorder in cereberrum and cerebellum suckling rat. *Indian journal of Biochemistry and Biophysic* 51: 293-301

**Bergmeyer H. 1980.** Alanine aminotransferase. *Clinica Chemica Acta* 105 : 147

**Bergmeyer H, Wahiegeld. 1978.** Aspartate aminotransferase. *Clinica Chemica Acta* 24: 58

**Bergmeyer H, Bower and Cols. 1976.** Aspartat aminotransferase. *Clinica Chemica Acta*:70

**Bergmeyer H. Schaibe and walefeld.1978.** Alanine aminotransferase. *Clinica Chemica Acta* 24: 58-73

**Bertelli A,Bertelli AA,Giozzini A, Giovannis L, 1998.** Plasma and tissue resveratrol concentrations and pharmacological activity, *Drugs Experimental Clinical Research* 24: 133–138.

**Bertelli AA, Giovanni L, Stradi R, Bertelli A,Tillement JP.1996.**Plasma, urine and tissue levels of trans- and cis-resveratrol (3,4',5-trihydroxystilbene) after short term or prolonged administration of red wines to rats, *International Journal Tissue Reactions* 18: 67–71.

**Bertelli AA,Giovannini L, Stradi R , Urien S, Tillement JP, Bertelli A.1996.** Kinetics of trans- and cis-resveratrol (3,4',5-trihydroxystilbene) after red wine oral administration to rats, *International Journl Clinicl Pharmacology Research* 16 : 77–81.

**Bhat KPL, Kosmeder JW, Pezzuto JM. 2001.** Biological effects of resveratrol. *Antioxidant Redox Signaling* 3:104-164.

**Bhutada P, Mundhada Y, Bansod K, Ubgade A, Quazi M, Sudhir Umathe S, Mundhada D.2010.** Reversal by quercetin of corticotrophin releasing factor induced anxiety- and depression-like effect in mice. *Progress Neuro-Psychopharmacology and biological psychiatry* 34:955–60.

**Bismuth C. 1993.** Armes chimiques, description et risques toxiques. *Réanimation Urgence*; 2: 625-633.

**Bocquene G, 1996.** L'acétylcholinestérase, marqueur de Neurotoxicité. Application à la surveillance des effets biologiques des polluants chez les organismes marins. Thèse de Doctorat, Ecole Pratique des Hautes Etudes, pp 250.

**Bokkenheuser VD, Shackleton CHL, Winter J.1987.** Hydrolysis of dietary flavonoid glycosides by strains of intestinal Bacteroides from humans. *Journal Biochemistry* 248: 953–956.

**Bonde JP, Toft G, Rylander L, Rignell-Hydbom A, Giwercman A, Spano M, Pedersen HS, Jonsson BA, Thulstrup A M et al. 2008.** Fertility and markers of male reproductive function in Inuit and European populations spanning large contrasts in blood levels of persistent organochlorines. *Environmental Health Perspectives* 116: 269-277.

**Boomgaarden I, Egert S, Rimbach G, Wolffram S, Muller MJ, Doring F. 2010.** Quercetin supplementation and its effect on human monocyte gene expression profiles in vivo. *British Journal Nutrition* 104:336–45.

**Boots AW, Haenen GR, Bast A.2008a.** Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *European Journal of Pharmacology* 585:325–337.

**Boots AW, Wilms LC, Swennen LR, Kleinjans JC, Bast A, Haenen GR., 2008b.** In vitro and ex vivo anti-inflammatory activity of quercetin in healthy volunteers. *Nutrition* 24:703–710.

**Bortolato M, Chen K, Shih JC.2008.** Monoamine oxidase inactivation: from pathophysiology to therapeutics. *Advanced Drug Delivery Review* 60: 1527–1533.

**Bradford MM.1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72:248–254.

**Burke NN, Geoghegan E, Kerr DM, Moriarty O, Finn DP, Roche M.2013.** Altered neuropathic pain behaviour in a rat model of depression is associated with changes in inflammatory gene expression in the amygdala. *Genes Brain Behavior* 12:705-713

**Burtis, A.1999.** Proteines totales. *Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed.

**Buyukokuroglu ME, Cemek E, Tosun M, Yurumez Y, Bas O.2008.** Dantrolene may prevent organophosphate-induced oxidative stress and muscle injury, *Pesticide Biochemistry Physiology* 92 :156-163

**Byung-Hwan L, Sun-Hye C, Sung-Hee H, Hyeon-Joong K, Joon-Hee L, and Seung-Yeol Nah.2013.** Resveratrol Inhibits GABA<sub>C</sub>  $\rho$  Receptor-Mediated Ion Currents Expressed in Xenopus Oocytes. *Korean Journal Physiology Pharmacology*. 17(2): 175–180.

**Cao G, Sofic E, Prior RL. 1997.** Antioxidant and prooxidant behaviour of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical biology and Medicine* 22: 749–760.

**Carmagnol F, Sinet PM, Jerome H. 1983.** Selenium-dependent and non-selenium-dependent glutathione peroxidases in human tissue extracts. *Biochimica Biophysica Acta*; 759:49–57.

**Carmin IA, Cristina WN. 2012.** Chlorpyrifos acute exposure induces hyperglycemia and hyperlipidemia in rats. *Chemosphere* 89 :602–608

**Carmine IA, Cristiane L, Marina P, Cristina WO. 2009.** Antidepressant-like effect of diphenyl diselenide on rats exposed to malathion: Involvement of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase activity. *Neurosciences Letters*, 455 : 168–172

**Cecilia I, Calero I, Andrea N, Beltrán G, Javier A, Silvia A, Pablo E, Daniel J. 2013.** Quercetin antagonism of GABA<sub>A</sub> receptors is prevented by ascorbic acid through a redox-independent mechanism. *European Journal of Pharmacology* 274–280

**Ceron JJ, Sacho E, Ferando MD, Guitierrez C, Andreu E. 1996.** Metabolic effects of diazinon on the European eel *Anguilla anguilla*. *Journal of environmental Science and health* 31: 1029-1040

**Chakraborti A, Gulati K, Banerjee BD. 2007.** Ray A. Possible involvement of free radicals in the differential neurobehavioral responses to stress in male and female rats. *Behavior Brain Research* 179:321–5.

**Chakraborti A, Gulati K, Ray A. 2008.** Age related differences in stress-induced neurobehavioral responses in rats: modulation by antioxidants and nitrergic agents. *Behav Brain Research* 194:86–91.

**Chambers WH. 1992.** Organophosphorus compounds: an overview. in: J.E. Chambers, P.E. Levi (Eds.), *Organophosphates, Chemistry, Fate and Effects*, Academic Press, San Diego, CA, pp. 3–17.

**Chan MMY, John A. Mattiacci HS. Amit S and Dunne F. 2000.** Synergy between Ethanol and Grape Polyphenols, Quercetin, and Resveratrol, in the Inhibition of the Inducible Nitric Oxide Synthase Pathway. *Biochemical Pharmacology* 1539–1548.

**Chaudhuri S, Banerjee A, Basu K, Sengupta B, Sengupta PK. 2007.** Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: antioxidant and antihemolytic effects. *International Journal Biological Macromolecules* 41:42–8.

**Chen Y. 2012.** Organophosphate-induced brain damage: mechanisms, neuropsychiatric and neurological consequences, and potential therapeutic strategies. *Neurotoxicology* 33:391–400

**Cho SY, Park SJ, Kwon MJ, Jeong TS, Bok SH, Choi WY, et al. 2003** Quercetin suppresses proinflammatory cytokines production through MAP kinases and NF- $\kappa$ B

pathway in lipopolysaccharide-stimulated macrophage. *Molecular and Cellular Biochemical* 243:153–60.

**Coffey RG, Hadden JW. 1985.** Neurotransmitters, hormones and cyclic nucleotides in lymphocyte regulation. *Federation proceedings* 44:112–117.

**Colosio C, Tiramani M, Maroni M.2003.** Neurobehavioral effects of pesticides: state of the art. *Neurotoxicology* 24: 577.

**Conte A, Pellegrini, Tagliazucchi D.2003.** Synergistic protection of PC12 cells from amyloid toxicity by resveratrol and catechin. *Brain Research Bulletin* 62: 29–38

**Costa LG, Aschner M, Vitalone A, Syversen T, Soldin,OP.2004.**Developmental neuropathology of environmental agents. *Annual Review Pharmacology and Toxicology* 44: 87-110.

**Costa LG, Giordano G, Guizzetti M, Vitalone A. 2008.** Neurotoxicity of pesticides: a brief review. *Frontiers in Bioscience* 13: 1240-1249.

**Das BK and Mukherjee SC.2003.** Toxicity of cypermethrin in *Labeo rohita* fingerlings: biochemical, enzymatic and hematological consequences. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 134:109-121.

**Das DK, Sato M, Ray PS, Maulik G, Engelman RM, Bertelli AA et al. 1999.** Cardioprotection of red wine: role of polyphenolic antioxidants. *Drugs Experimental Clinical Research* 25:115-120.

**Das S, Das DK. 2007.** Anti-inflammatory responses of resveratrol. *Inflamm. AllergyDrug Targets* 6: 168–173.

**Dasgupta B, Milbrandt J. 2007.** Resveratrol stimulates AMP kinase activity in neurons. *PNAS* 104: 7217–7222.

**Davies SE, Portman BC. 1987.** Drugs and toxins, in: D.G.D. Wight (Ed.), *Liver,Biliary Tract and Exocrine Pancreas*, Churchill Livingstone, Edinburgh, pp. 201–236.

**Dekermendjian K, Kahnberg P, Witt MR,Sterner O, Nielsen M,Liljefors T. 1999.**Structure–activity relationships and molecular modelling analysis of flavonoids binding to the benzodiazepine site of the rat brain GABA (A) receptor complex. *Journal of Medicinal Chemistry* 42:4343–4350.

**Delmas D, Jannin B, Latruffe N. 2005.** Resveratrol: preventing properties against vascular alterations and ageing. *Mol. Nutrition Food Research* 49: 377-395

**Den Hond E & Schoeters G, 2006.** Endocrine disrupters and human puberty. *International Journal Andrology* 29: 264-271.

**Dexiang L, Qingrui Z, Jianhua G, Xueer W, Kai X, Xiuying X, Jianmeiang W, Hong J , ZhenWang.2014.** Resveratrol prevents impaired cognition induced by

chronic unpredictable mild stress in rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 49:21-29

**Diego V, Beckmann B, Fabiano B, Carvalho b, Cinthia M, Mazzanti R, Santos AO, Graciane A, Angel R, Dominguita L, Graça F et al.2014.** Neuroprotective role of quercetin in locomotor activities and cholinergic neurotransmission in rats experimentally demyelinated with ethidium bromide. *Life Sciences* 103: 79–87

**Dixon RA, Paiva NL. 1992.** Stress induced phenylpropanoid metabolism, *Plant Cell* 7. 1085–1097.

**Domschke K & Zwanzger P. 2008.** GABAergic and endocannabinoid dysfunction in anxiety - future therapeutic targets? *Current Pharmaceutical Design.* 14: 3508-3517.

**Draper HH, Hadley M.1990.** Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods in Enzymol* 1990;186:421-31.

**EI-Mallakh RS, R Li, 1993.** Is the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase the link between phosphoinositide metabolism and bipolar disorder? *Journal of Neuropsychiatry.* 5: 361–368.

**EI-Mallakh RS, Wyatt RJ, 1995;** TheNa<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase hypothesis for bipolar illness, *Biology Psychiatry* 37:235–244.

**Einat H, Belmaker RH, Zangen A, Overstreet DH, Yadid G. 2002.** Chronic inositol treatment reduces depression-like immobility of Flinders sensitive line rats in the forced swim test. *Depression and Anxiety* 15: 148.

**Eisner CS, Neal RD, Scaife B.1999.** The effect of the 1996 “beef crisis” on depression and anxiety in farmers and nonfarming controls. *British Journal General Practice* 49:385–6.

**Elhalwagy MEA, Darwish NS, Zaher EM. 2008.** Prophylactic effect of green tea polyphenols against liver and kidney injury induced by fenitrothion insecticide. *Pesticide Biochemistry Physiology* 91: 81–89.

**Elizalde N, Gil-Bea FJ, Ramirez MJ, Aisa B, Lasheras B, et al. 2008.** Long-lasting behavioral effects and recognition memory deficit induced by chronic mild stress in mice : effect of antidepressant treatment. *Psychopharmacology*;199(1):1-14.

**Elliott AJ, Scheiber SA, Thomas C, Pardini RS.1992.**Inhibition of glutathione reductase by flavonoids.A structure-activity study. *Biochemical Pharmacology* 44:1603–1608.

**Elliott BM, Faraday MM, Phillips JM, Grunberg NE.2004.** Effects of nicotine on elevated plus maze and locomotor activity in male and female adolescent and adult rats, *Pharmacology Biochemistry Behavior* 77: 21-28.

**Ellman GI, Courtney KD, Andres V Jr, Feather-Stone RM.1961.** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemistry Pharmacology*; 7:88-95.

**Ellman GL.1959.** Tissue sulfhydryl groups. *Archives Biochemistry and Biophysics* 82(486):70-7.

**Eman E, Doha Y, Neveen AE.2013.** Sub-chronic exposure to chlorpyrifos induces hematological, metabolic disorders and oxidative stress in rat: Attenuation by glutathione. *Environmental toxicology and pharmacology* 3 5: 218–227

**Eren I, Naziroglu M, Demirdas A. 2007.** Protective effects of lamotrigine, aripiprazole and escitalopram on depression-induced oxidative stress in rat brain. *Neurochemistry Research*. 32: 1188–1195.

**Eriksson P, Ahlbom J, Fredriksson A, 1992.** Exposure to DDT during a defined period in neonatal life induces permanent changes in brain muscarinic receptors and behaviour in adult mice. *Brain Research*. 582: 277-281.

**Eriksson P, Nilsson-Hakansson L, Nordberg A, Aspberg A, Fredriksson A, 1990.** Neonatal exposure to DDT and its fatty acid conjugate: effects on cholinergic and behavioural variables in the adult mouse. *Neurotoxicology* 11: 345-354.

**Espejo EF.1997.** Structure of the mouse behavior on the elevated plus maze test of anxiety . *Behavior brain Research* 86: 105-112.

**Fabricio LA, K`enia DZ, Patr´icia S, Brocardo PP, Ana LS, Reinaldo N. Ti. 2005.** Behavioral effects and ChE measures after acute and repeated administration of malathion in rats, *Environmental Toxicology Pharmacology* 20: 443–449

**Fahlman BM, Krol ES. 2009.** UVA and UVB radiation-induced oxidation products of quercetin. *Photochemical Photobiology B*; 97:123–31.

**Fan G, Tang JJ, Bhadauri M, Niral SK, Dai F, Zhou B, Li Y, Liu ZL. 2009.** Resveratrol ameliorates carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 28,350–356

**Fasce CF.1982.** Cholesterol. *Clinica Chimica Acta* 18:901

**File SE, Gonzalez LE, Andrews N.1998.** Endogenous acetylcholine in the dorsal hippocampus reduces anxiety through actions on nicotinic and muscarinic1 receptors. *Behavioral Neurosciences* 112: 352.

**Filippos Karalis a, Vassiliki Soubasi b, Thomas Georgioua, Christos T. Nakasb, Constantina Simeonidoua, Olympia Guiba-Tziampiri a, Evangelia Spandoua.2011.** Resveratrol ameliorates hypoxia/ischemia-induced behavioral deficits and brain injury in the neonatal rat brain. *Brain research* 1 4 2 5:9 8 – 1 1 0.

- Fossati P. 1982.** Triglycerides., *Clinica Chimica Acta* 28:2077
- Frankel E.N, Waterhouse A.L, Kinsella J.E. 1993.** Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. *Lancet*;341:1103-1104.
- Fritze J, 1993.**The adrenergic–cholinergic imbalance hypothesis of depression: a review and a perspective, *Reviews in Neurosciences* 41 :63–93.
- Furnes B, Schlenk D. 2005.** Extrahepatic metabolism of carbamate and organophosphate thio ether compounds by the flavin-containing monooxygenase and cytochrome P450 systems .*Drug Metabolism and disposition* 33;214–218.
- Gallo MA , Lawryk NJ. 1995 .** Organic phosphorus pesticides, in: W.J. Hayes, E.R. Laws (Eds.), *Handbook of Pesticide Toxicology*, second ed., Academic Press, SanDiego, pp. 938–941.
- Galloway T, Handy R. 2003.** Immunotoxicity of organophosphorous pesticides. *ecotoxicology* 12: 345–363.
- Gamaro GD, Streck EL,Matte C, Prediger ME,Wyse ATS,Dalmaz C.2003.** Reduction of hippocampal Na+K+ ATPase activity in rats subjected to an experimental model of depression, *Neurochemistry Research*. 28:1339–1344.
- Gao X, Xu YX, Divine G, Janakiraman N, Chapman RA, Gautam SC. 2002.**Disparate in vitro and in vivo antileukemic effects of resveratrol, a natural polyphenolic compound found in grapes. *Journal of Nutrition*;132:2076e81.
- Garcia-Alloza M, Gil-Bea FJ, Diez-Ariza M,Chen M,Francis PT, Lasheras MJ. Ramirez M. 2005.**Cholinergic–serotonergic imbalance contributes to cognitive and behavioral symptoms in Alzheimer’s disease, *Neuropsychologia* 43:442–449.
- Gavande N, Karim N, Johnston GA, Hanrahan JR, Chebib M.2011.**Identification ofbenzopyran-4-onederivatives(isoflavones) as positive modulators of GABA(A) receptors.*ChemMedChem*6(1340–1346),1317.
- Gill TS, Pande J ,Tewari H.1991.** Individual and combined toxicity of common pesticides to teleost *Puntius conchonus* Hamilton. *Indian Journal Experimental Biology* 29: 145–148.
- Gill TS, Pande J, Tewari H.1990.** Sublethal effects of an organophosphorus insecticide on certain metabolite levels in a freshwater fish, *Puntius conchonus* Hamilton. *Pesticide Biochemistry Physiology* 36: 290–299.
- Giordano G, Afsharinejad Z, Guizetti M, Vtalone A, Kavanagh TJ, Costa LG. 2007.** Organophosphorus insecticides chlorpyrifos and diazinon and oxidative stress in neuronal cells in a genetic model of glutathione deficiency, *Toxicology and Applied Pharmacology* 219 (2), 181–189.

**Gokce Uzun F et Kalender Y.2013.** Chlorpyrifos induced hepatotoxic and hematologic changes in rats:The role of quercetin and catechin. *Food and Chemical Toxicology* 55: 549–556

**Goldberg DM, Hanh SE, Parkes JG. 1995.** Beyond alcohol: beverage consumption and cardiovascular mortality. *Clinica Chimica Acta* 237:155–87.

**Goutman JD, Waxemberg MD,Donate-Oliver F,Pomata PE, Calvo DJ.2003.** Flavonoid modulation of ionic currents mediated by GABA(A) and GABA (C) receptors. *European Journal of Pharmacology* 461:79–87.

**Gupta RC. 2001.** Depletion of energy metabolites following acetylcholinesterase inhibitor-induced status epilepticus: protection by antioxidants. *Neurotoxicology* 22, 271.

**Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB.1974.** Glutathione S-transferase, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal Biological Chemistry* 1974;249:7130-9.

**Hall C S. 1934.** Emotional behavior in the rat. Defecation and urination as measures of individual difference in emotionality. *Journal Comparative Psychology* 18: 385-403.

**Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999.** *Free Radicals in Biology and Medicine.* Oxford Science Publications, Oxford.pp.617-783

**Halls C, Yu O, 2008.** Potential for metabolic engineering of resveratrol biosynthesis, *Trends Biotechnology* 26:77–81.

**Handley SL, Mithani S.** Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze exploration model of 'fear'-motivated behaviour. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* 1984; 32: 1-5.

**Handy RD, Abd-El Samei HA,Bayomyv MFF,Mahran AM,Abdeen AM,El-Elaimy EA. 2002.** Chronic diazinon exposure: pathologies of spleen, thymus, blood cells, and lymph nodes are modulated by dietary protein or lipid in the mouse. *Toxicology* 172: 13–34

**Hanrahan JR,Chebib M,Johnston GA.,2011.** Flavonoid modulation of GABA(A) receptors. *British Journal of Pharmacology* 163:234–245.

**Haussamen T.U. et al 1977.** Phosphatase alkaline. *Clinica Chimica Acta* 35:271-273

**Hayley S, Poulter MO, Merali Z, Anisman H .2005.** The pathogenesis of clinical depression: stressor- and cytokine-induced alterations of neuroplasticity. *Neurosciences* 135:659–678.

**Heo HJ, Lee CY. 2004.** Protective effects of quercetin and vitamin C against oxidative stress-induced neurodegeneration. *Journal of Agricol Food and Chemistry*;52(25):7514–7.

**Herken H, Gurel A, Selek S, Armutcu F, Ozen ME, Bulut M, Kap O, Yumru M, Savas HA, Akyol O. 2007.** Adenosine deaminase, nitric oxide, superoxide dismutase, and xanthine oxidase in patients with major depression: impact of antidepressant treatment. *Archive Medical Research* 38: 247–252.

**Herrmann K. Flavonols and flavones in food plants: 1976** a review. *Journal of Food and Technol*;11:433–48.

**Hers HG. 1990.** Mechanisms of blood glucose homeostasis. *Journal Inherited Metabolic Disorder*. 13: 395–410.

**Hodgson E.2004.** extbook of Modern Toxicology, 3rd Ed. John Wiley and Sons Inc. New Jersey.pp 68

**Hou Y, Zeng Y, Li S, Qi L, Xu W, Wang H, Zhao X, Sun C.2014.** Effect of quercetin against dichlorvos induced nephrotoxicity in rats. *Experimental Toxicology Pathology* 66(4):211-8

**Howitz K.T, Bitterman K.J., Cohen H.Y, Lamming D.W. , Lavu S., Wood J.G, Hung LM, Su MJ, Chen JK, 2004.** Resveratrol protects myocardial ischemia–reperfusion inhibition, *Chemico-Biological Interaction* 151: 143–149.

**Jain NC.1993.** Essentials of Veterinary Hematology, Lea &Febiger, Philadelphia, pp., 159-295.

**Jane RH, Mary C,and Graham ARJ. 2011.**Flavonoid modulation of GABA<sub>A</sub> receptors. *British Journal Pharmacology*.163(2): 234–245.

**Jang M , Cai L, Udeani G.O, Slowing KV , Thomas CF, Beecher CW, Fong HH,Farnsworth NR,Kinghorn AD,Mehta RG, Moon RC , Pezzuto JM.1997.** Cancer chemopreventiveactivity of resveratrol, a natural product derived from grapes, *Science* 275: 218–220.

**Joe AK, Liu H, Suzui M, Vural ME, Xiao D, Weinstein IB. 2002.** Resveratrol induces growth inhibition, S-phase arrest, apoptosis, and changes in biomarker expression in several human cancer cell lines. *Clinical Cancer Research*;8:893-903.

**John S, Kale M, Rathore N, Bhatnagar D,2001.**Protective effect of vitamin E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes. *Journal of nutrition and biochemistry*;12:500-504.

**Juan ME, Vinardell MP, Planas JM. 2002.** The daily oral administration of high doses of trans-resveratrol to rats for 28 days is not harmful. *Journal of Nutrition*; 132:257-260.

**Julka D, Gill KD. 1996.** Effect of aluminum on regional brain antioxidant defense status in Wistar rats. *Research Experimental Medicine*; 196:187–94.

**Kaleb C. Lund, Traci Pantuso, ND. 2014.** Combination Effects of Quercetin, Resveratrol and Curcumin on In Vitro Intestinal Absorption. *Journal of Restorative Medicine* 3: 119

**Kalender S, Kalender Y, Durak D, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Cevrimli BS, Yildirim M. 2007.** Methyl parathion induced nephrotoxicity in male rats and protective role of vitamins C and E, *Pesticide Biochemistry Physiology* 88 :213-218.

**Kalender S, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Acikgoz F, Durak D, Ulusoy Y, , Kalender Y. 2005.** Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. *Toxicology* 211:197–206.

**Kalender Y, Uzunhisarcikli M, Ogutcu A, Acikgoz F, Kalender S. 2006.** Effects of diazinon on pseudocholinesterase activity and haematological indices in rats: the protective role of Vitamin E, *Environmental Toxicology Pharmacology* 22 :46-51

**Kandaswami C, Middleton EJr. 1994.** Free radical scavenging and antioxidant activity of plant flavonoids, *Advances in Experimental Medicine Biology* 366:351–376.

**Kandil MA, El-Kashoury AA, El-Said MM, El-Herrawy MA. 2006.,** Interactive effects of imidacloprid, profenofos and carbosulfan at low concentrations on homeostasis and haematological indices in male albino rats. *Journal Egyptian Society Toxicology* 35: 69-78.

**Karim N, Gavande N, Wellendorph P, Johnston GA, Hanrahan JR, Chebib M, 2011.** 3-Hydroxy-2'-methoxy-6-methylflavone: a potent anxiolytic with a unique selectivity profile at GABA(A) receptor subtypes. *Biochemical Pharmacology* 15;82(12):1971-83

**Kawabata K, Kawai Y, Terao J .2010.** Suppressive effect of quercetin on acute stress-induced hypothalamic–pituitary–adrenal axis response in Wistar rats. *Journal Nutrition Biochemical* 21:374–380.

**Kerem M, Nurdan B, Neslihan G, Özgür E, Abdulkadir , Taylan , Ömer , Hatice ,2007.** Effects of Acute Fenthion Toxicity on Liver and Kidney Function and Histology in Rats. *Turkish Journal of Medical Sciences* 37(5): 281-288

**Kimmerle G .1963.** Studies on mammalian toxicity of fenthion (S 1752) by J.I Francis and J.M Barnes. *Farbenfabriken Bayer Ag, Toxicology Laboratory, Wuppertal-Elberfeld.* 18 January .

**King R.E , Kent K.D., Bomser J.A. 2005.** Resveratrol reduces oxidation and proliferation of human retinal pigment epithelial cells via extracellular signal-regulated kinase inhibition. *Chemico Biological Interaction* 151: 143–149.

**Kirby LG et Lucki I. 1997.** Interaction between the forced swimming test and fluoxetine treatment on extracellular 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid in the rat, *Journal Pharmacology Experimental Therapeutic* 282(2): 967-976.

**Kiziltepe U, Turan NN, Han U, Ulus AT, Akar F. 2004.** Resveratrol, a red wine polyphenol, protects spinal cord from ischemia-reperfusion injury. *Journal Vascular Surgery.* 40: 138-145.

**Klucinski P, Hrycek H, Stasiura – Zielinska S, Kossmann J, Tustanowski D, Kaminska-Kolodziej B.1996.**Humoral and cellular immunity rates in chemical plant workers employed in the production of liquid pesticides. *Int J Occup Med Environ Health;* 9:103-110.

**Krieger RI.2001.** Handbook of Pesticide Toxicology, Academic Press, New York (NY), pp 275-283

**Krogh J, Benros ME, Jorgensen MB, Vesterager L, Elfving B,Nordentoft M.2013.** The association between depressive symptoms, cognitive function, and inflammation in major depression. *Brain Behavior Immunity* 35:70-76

**Kumar A, Goyal R. 2008.** Quercetin protects against acute immobilization stress-induced behaviors and biochemical alterations in mice. *Journal Medical Food* 11:469–73.

**Kuzu N, Metin K, Ferda Dagli A, Akdemir F, Orhan C, Yalniz M et al.2007.** Protective role of genistein in acute liver damage induced by carbon tetrachloride. *Mediators Inflammation;* 1–6.

**Kwong TC. 2002.** Organophosphate pesticides: biochemistry and clinical toxicology, *Therapeutic Drug and Monitoring;* 24:144-149

**Landrigan PJ, Claudio L, Markowitz SB, Berkowitz GS, Brenner BL, Romero H, et al. 1999.** Pesticides and inner-city children: exposures, risks, and prevention. *Environmental Health and Perspectives,* 107:431–7.

**Lasram MM, Annabi AB, Elj N, Selmi S, Kamoun A, El-Fazaa S, Gharbi N. 2009.** Metabolic disorders of acute exposure to malathion in adult Wistar rats. *Journal Hazardous. Materials.*163: 1052–1055.

**Lasrama MM , Ines Bini Dhouiba,c, Kahna Bouzidb,Aicha Jrad Laminea, Alya Annabia, Nadia Belhadjhmidad,Malika Ben Ahmedc, Saloua El Fazaaa, Jaouida Abdelmoulab,Najoua Gharbi.2014.** Association of inflammatory response andoxidative injury in the pathogenesis of liversteatosis and insulin resistance followingsubchronic exposure to malathion in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 38 : 542–553

**Krim M.2014.** L'importance des antioxydants dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates chez les rats. Thèse de doctorat en Biochimie. pp 207.

**Lastra CA, Villegas I.2005.** Resveratrol as an anti-inflammatory and anti-aging agent: mechanisms and clinical implications. *Molecular Nutrition Food Research* 49: 405-430.

**Lee WJ, Alavanja MC, Hoppin JA, Rusiecki JA, Kamel F, Blair A, et al. 2007.** Mortality among pesticide applicators exposed to chlorpyrifos in the Agricultural Health Study. *Environmental Health and Perspectives*;115:528–34.

**Leiro J,Ivarez EA,Garci´a D.2002.** Orallo bResveratrol modulates rat macrophage functions. *International Immunopharmacology* 2: 767–774

**Leonardo ED & Hen R. 2008.** Anxiety as a developmental disorder. *Neuro psychopharmacology* 33: 134-140.

**Lin C, Yu Y, Zhao HG, Yang A, Yan H, Cui Y. 2011.** Combination of quercetin with radiotherapy enhances tumor radiosensitivity in vitro and in vivo. *Radiotherapy Oncology.* ; 104(3):395-400

**Lindqvist D, Hall S, Surova Y, Nielsen HM, Janelidze S, Brundin L,Hansson O .2013.** Cerebrospinal fluid inflammatory markers in Parkinson’s disease – associations with depression, fatigue, and cognitive impairment. *Brain Behavior Immunity* 33:183–189.

**Lister RG. 1987.** The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology* 92: 180-185.

**Lister RG. 1990.** Ethologically-based animal models of anxiety disorders. *Pharmacology and Therapeutics* 46: 321.

**Liu D, Zhang Q, Gu J, Wang X, Xie K, Xian X, Wang J, Jiang H, Wang Z.2014.** Resveratrol prevents impaired cognition induced by chronic unpredictable mild stress in rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 49: 21–29

**London L, Flisher AJ, Wesseling C, Mergler D, Kromhout H. 2005.** Suicide and exposure to organophosphate insecticides: cause or effect? *American Journal of Industrial Medecine*;47: 308–21.

**Lopresti AL, Maker GL, Hood SD,Drummond PT, 2014.** A review of peripheral biomarkers in major depression: The potential of inflammatory and oxidative stress biomarkers. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 48:102–111

**Lucio G. Costa, Rian de Laat, Khoi Dao , Claudia Pellacani , Toby B. 2014.**Cole a,b,c, Clement E. Furlong. Paraoxonase-2 (PON2) in brain and its potential role in neuroprotection. *NeuroToxicology* 43: 3–9

**Madhavan PN, Naira CK, Supriya M, Kailash C. Chadhac RC, Harikrishnan N, Niranjan K, Raji EN,Stanley AS.2002.** The flavonoid, quercetin, differentially

regulates Th-1 (IFN $\gamma$ ) and Th-2 (IL4) cytokine gene expression by normal peripheral blood mononuclear cells. *Biochimica et Biophysica Acta* : 29– 36

**Maes M.2008.** The cytokine hypothesis of depression: inflammation,oxidative & nitrosative stress (IO&NS) and leaky gut as new targets for adjunctive treatments in depression. *Neuroendocrinology Letters* 29:287–291.

**Maha AE, Hebatalla IA, Engy ME. 2013.** Melatonin Protects Against Diazinon-Induced Neurobehavioral Changes in Rats. *Neurochemistry Research* 38:2227–2236

**Makino M, Kitano Y, Komiyama C, Hirohashi M, Takasuna K.2000.** Involvement of central opioid systems in human interferonalphainduced immobility in the mouse forced swimming test. *British Journal Pharmacology* 130: 1269.

**Mamatha G, Maokai G, Ravi V,Raj L, 2010.** Quercetin up-regulates paraoxonase 1 gene expression via sterol regulatory element binding protein 2 that translocates from the endoplasmic reticulum to the nucleus where it specifically interacts with sterol responsive element–like sequence in paraoxonase 1 promoter in HuH7 liver cells. *Metabolism Clinical and Experimental* 59 :1372–1378

**Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Rémésy C.2005.** Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *American Journal of Clinical Nutrition*;81:230S- 42S.

**Mansour SA, Mossa AH. 2010.** Oxidative damage, biochemical and histopathological alterations in rats exposed to chlorpyrifos and the antioxidant role of zinc. *Pesticide Biochemistry Physiology* 96, 14–23.

**Maroni C, Colosio A, Ferioli A.2000.** Fait, Biological monitoring of pesticide exposure: a review. *Toxicology* 1-18

**Marti´nez J, Moreno JJ. 2000.**Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on reactive oxygen species and prostaglandin production. *Biochemistry Pharmacology* 59:865– 70.

**Mayer DF, Lurden CA, Williams RE, 1991.** Tralomethrin insecticide and domestical pollinator. *American Bee Journal.* 132: 461.

**Mazzio EA, Harris N, Soliman KF.1998.** Food constituents attenuate monoamine oxidase activity and peroxide levels in C6 astrocyte cells. *Planta Medica* 64 (7): 603–606.

**Merhi M, Demur C, Racaud-Sultan C, Bertrand J, Canlet C.2010.** Gender-linked haematopoietic and metabolic disturbances induced by a pesticide mixture administered at low dose to mice. *Toxiology* 267:80–90.

**Merzoug S, Toumi ML & Tahraoui A. 2014.** Quercetin mitigates Adriamycin-induced anxiety-and depression-like behaviors, immune dysfunction, and brainoxidative stress in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 387:921-933

**Metcalf RL, Branch CE, Swift TR, Sikes RK.1985.** Neurological findings among workers exposed to fenthion in a veterinary hospital-Georgia. *MMWR* 34,402-403.

**Middleton EJr.1998.** Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function, *Advances Experimental Medicine Biology* 439 ; 175– 182.

**Milane H.2004.** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de Doctorat. Université Louis Pasteur. Strasbourg I.

**Milindmitra L, Manoj K, Sachin R, Prarabdha B, Sagar D, Avinash T. 2014.**Evaluation of imidacloprid-induced neurotoxicity in male rats: A protective effect of curcumin, *Neurochemistry International* 78:122–129

**Millward-Sadler GH. 1987.**The liver in systemic disease, in: D.G.D. Wight (Ed.), *Liver, Biliary Tract and Exocrine Pancreas*, Churchill Livingstone, Edinburgh, , pp 425–468.

**Min YD, Choi CH, Bark H, Son HY, Park HH, Lee S, et al. 2007** Quercetin inhibits expression of inflammatory cytokines through attenuation of NF- $\kappa$ B and p38 MAPK in HMC-1 human mast cell line. *Inflammatory research* ;56:210–5.

**Misra UK, Nag D, Bhushan V,Ray PK.1985.** Clinical and biological changes in chronically exposed organophosphorous workers. *Toxicology Letters* 24:187-193

**Mohler H., 2006.** GABA<sub>A</sub> receptors in central nervous system disease: anxiety, epilepsy, and insomnia. *Journal of Receptors and Signal Transducers Research* 26: 731-740.

**Molina-Hernández M, Tellez-Alcántara NP, Garcí JP, Lopez JIO, Jaramillo MT. 2004.** Synergistic interaction between ketoconazole and several antidepressant drugs with allopregnanolone treatments in ovariectomized Wistar rats forced to swim. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*; 28(8):1337-45.

**Mongi S, Messarah M,Boumendjel M, Kamel J,ElFekia A.2011.** Protective effects of vitamin C against haematological and biochemical toxicity induced by deltamethrin in male Wistar rats *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74 ; 1765–1769  
*Nat. Rev.* 500:493–506.

**National Institute for Occupational Safety and Health 1976.** Working Safely with Pesticides, Publication No. 76-147.

**National Institute for Occupational Safety and Health, Cincinnati, OH. 1985.** Clinical and biological changes in chronically exposed organophosphorous workers. *Toxicology Letters* 24:187-193.

**National Institute for Occupational Safety and Health.1984.** Health Evaluation Report No. HETA 83-373-1501. National Institute for Occupational Safety and Health, Cincinnati, OH.

**Navarro C, Montilla P, Martin A, Jimenez J, Utrilla P ,1993.**Free radicals scavenger and antihepatotoxic activity of Rosmarinus. *Planta Medica* 59: 312–314.

**Neishabouri EZ, Hassan ZM, Azizi SN.2004.** Evaluation of immunotoxicity induced by diazinon in C57bl/6 mice.*Toxicology* 2004;196:173–179

**Nejat Gacar, Oguz M, Tijen U, Ipek KC,Semil SG, Güner U.2011.** Beneficial effects of resveratrol on scopolamine but not mecamlamine induced memory impairment in the passive avoidance and Morris water maze tests in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 99 316–323.

**Nigg NH, Knaak JB. 2000.** Blood cholinesterases as human biomarkers of organophosphorus pesticide exposure. *Reviews Environmental Contamination Toxicology*. 163 : 29–111.

**Nordlie RC, Foster JD, Lange AJ.1999.** Regulation of glucose production by the liver. *Annual Review Nutrition*. 19,379–406.

**OCS, 2008.**Review of the mammalian toxicology and metabolism toxicocinetic of fenthion, of human retinal pigment epithelial cells via extracellular signal-regulated kinase

**Ogutcu A, Suludere Z, Kalender Y. 2008.** Dichlorvos-induced hepatotoxicity in rats and the protective effects of vitamins C and E. *Environmental Toxicology Pharmacology*. 26: 355–361.

**Olausson P, Engel JA, Soderpalm B. 1999.** Behavioral sensitization to nicotine is associated with behavioral disinhibition, counteraction by citalopram. *Psychopharmacology* 142: 111.

**Omya GA.2012** Immune Modulating Effects of Malathion with the Role of Bradykinin Potentiating Factor in Juvenile Male Rats. *Ibnosina Journal of Medicine and Biomedical Sciences* 5: 151-169

**Onaivi ES, Green MR, Martin BR. 1990.** Pharmacological characterization of cannaboids in the elevated plus maze. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic*. 253:1002-1009.

**Oršolić N, Bašić I. 2005** .Water-soluble derivative of propolis and its polyphenolic compounds enhance tumoricidal activity of macrophages. *Journal of Ethnopharmacology*;102:37–45.

**Osicka-Koprowska A, Lipska M, Wysocka-Paruszezewska B.1984**. Effects of chlorfenvinphos on serum corticosterone and aldosterone levels in rats. *Archive Toxicology* 55:68–9.

**Oswal DP, Garrett TL, Morris M, Lucot JB .2012**. Low-dose sarin exposure produces long term changes in brain neurochemistry of mice. *Neurochemistry Res* 38:108–116

**Ouagazzal AM, Kenny PJ, File SE.1999**. Modulation of behaviour on trials 1 and 2 in the elevated plus-maze test of anxiety after systemic and hippocampal administration of nicotine. *Psychopharmacology* 144: 54.

**Pace-Asciak CR, Hahn S, Diamandis EP, Soleas G, Goldberg DM. 1995**. The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: implications for protection against coronary heart disease. *Clinica Chimica Acta*;235:207e19.

**Paludan SR. 1998**. Interleukin-4 and interferon-gamma: the quintessence of a mutual antagonistic relationship, *Scandinave Journal Immunology*. 48 (5) :459– 468.

**Parron T, Hernandez AF, Villanueva E. 1996**. Increased risk of suicide with exposure to pesticides in an intensive agricultural area. A 12-year retrospective study. *Forensic. Sci. Int.* 79: 53.

**Patel HC, Ross FM, Heenan LE, Davies RE, Rothwell NJ, Allan SM.2006**. Neurodegenerative actions of interleukin-1 in the rat brain are mediated through increases in seizure activity. *Journal Neurosciences Research* 83:385–391.

**Patin V, Lordi B, Vincent A, Caston J**. Effects of prenatal stress on anxiety and social interactions in adult rats. *Developmental Brain Research* 2005;160:265-274.

**Pawlikowska-Pawlega B, Gruszecki WE, Misiak LE, Gawron A. 2003** The study of the quercetin action on human erythrocyte membranes. *Biochemical Pharmacology* 66:605–12.

**Paykel ES. 2006**: Depression: major problem for public health, *Epidemiologia Psichiatria Sociale* 15: 4–10.

**Peker EGG, Coşkun Ş, Özer C, Balabanli KB, Gönül B.2010**. The effect of ascorbic acid supplementation on brain oxidative events in experimental diabetes. *Medical Chemistry Research* 19:364-374

**Pellow, Chopin P, File SE, Briley M.1985**. Validation of open: closed arm entries in Elevated plus maze as a measures of anxiety in the rat .*Journal of Neurosciences Methods* 14 :149.

**Peña-Llopis S.2005.** Antioxidants as potentially safe antidotes for organophosphorus poisoning. *Current Enzym Inhibition*. 64: 147–156.

**Petit-Demouliere B, Chenu F, Bourin M. 2005.** Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity, *Psychopharmacology (Berl)*. Vol. 177(3): 245-255.

**Petterino C, Argentino-Storino A. 2006.** Clinical chemistry and haematology historical data in control Sprague-Dawley rats from pre-clinical toxicity studies. *Experimental Toxicology Pathology*. 57: 213–219.

**Pezzuto J.M., Mehta R.G ., van Breemen R.B ,2002.** Human, rat and mouse metabolism of resveratrol, *Pharmacology Research* 19:1907–1914.

**Philbert MA, Billingsley ML., Reuhl K R.2000.** Mechanisms of injury in the central nervous system. *Toxicology and Pathology* 28, 43-53.  
poisoning, *Neurology India* 48(4):308–313.

**Porsolt R, Le Pichon M, Jalfre M.1977.** Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatment. *Nature* 266: 730-732

**Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M, 1977.** Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants, *Archives Internationales de Pharmacodynamie et Therapie* 229(2): 327-336.

**Porsolt, RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M, 1978.** Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *European Journal Pharmacology* 47:379–91.

**Prathiba J, Kumar KB, Karanth KS. 2000.** Effects of REM sleep deprivation on cholinergic receptor sensitivity and passive avoidance behavior in clomipramine model of depression. *Brain Research* 867: 243-245

**Primo-Parmo SL, Sorenson RC, Teiber J, La Du BN1996.** The human serum paraoxonase/ arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomics*; 33:498–507.

**Priprem A, Watanatorn J, Sutthiparinyanont S, Phachonpai W, Muchimapura S.2008.** Anxiety and cognitive effects of quercetin liposomes in rats. *Nanomedicine* 4:70–8.

**Prut L et Belzung C. 2003.** The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology* 463: 3-33. *Psychiatry* 37: 235–244.

**Pu F, Mishima K, Irie K, Motohashi K, Tanaka Y, Orito K, Egawa T, Kitamura Y, Egashira N, Iwasaki K, Fujiwara M. 2007.** Neuroprotective effects of quercetin and rutin on spatial memory impairment in an 8-arm radial maze task and neuronal death induced by repeated cerebral ischemia in rats. *Journal Pharmacological Science*; 104 :329–34.

**Raghavendra V, Kulkarni SK. 2001.** Possible antioxidant mechanism in melatonin reversal of aging and chronic ethanol induced amnesia in plus maze and passive avoidance memory tasks. *Free Radical Biology Medicine* 30:595–602.

**Rahimi R, Abdollahi M. 2007.** A review on mechanisms involved in hyperglycemia induced by organophosphorus insecticides. *Pesticide Biochemistry Physiology* 88 : 115–121.

**Ramade F. 2005.** Introduction à l'écotoxicologie : fondements et applications. pp. 205.

**Reidy TJ, Bowler RM, Rauch SS, Pedroza GI. 1992.** Pesticide exposure and neuropsychological impairment in migrant farm workers, *Archive of clinical neuropsychol* 7: 85-95

**Renaud S, De Lorgeril M. 1992.** Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet*;339:1523-1526.

**Richardson RJ. 1995.** Assessment of the neurotoxic potential of chlorpyrifos relative to other organophosphorus compounds: a critical review of the literature. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 44 (2):135-165.

**Richmond. 1973.** Cholesterol. *Clinica Chemica Acta* 19:1350

**Robert D.1974.** Fenthion. Environmental protection Agency.pp.8

**Roberts RE, Lee ES.1993.** Occupation and the prevalence of major depression, alcohol, and drug abuse in the United States. *Environmental Research* 61:266–78.

**Rodrigo L, Hernandez AF, Lopez-Caballero JJ, Gil F, Pla A.2001.** Immunohistochemical evidence for the expression and induction of paraoxonase in rat liver, kidney, lung and brain tissue implications for its physiological role, *Chemico-Biological Interaction*137: 123–137.

**Sáenz JCB, Villagra OR, Trías JF.2006.** Factor analysis of forced swimming test, sucrose preference test and open field test on enriched, social and isolated reared rats. *Behavior Brain research* 169: 57-65

**Sale S, Verschoyle RD, Boocock D, Jones DJL, Wilsher N, Ruparelia KC, Potter GA, Farmer PB, Steward WP, Gescher AJ. 2004.** Pharmacokinetics in mice and growth inhibitory properties of the putative cancer chemopreventive agent resveratrol and the synthetic analogue trans 3, 4, 5, 4'-tetramethoxystilbene. *British Journal Cancer* 90: 736–744.

**Salvi RM, Lara DR, Ghisolfi ES, Portela LV, Dias RD, Souza DO. 2003.** Neuropsychiatric evaluation in subjects chronically exposed to organophosphate pesticides, *Toxicological Sciences* 72 (2): 267–271.

**Sampson L, Rimm E, Hollman PC, De Vries JH, Katan MB. 2002.** Flavonol and flavone intakes in US health professionals. *Journal of the American Dietetic Association* 102:1414–20.

**Sanne B, Mykletun A, Moen BE, Dahl AA, Tell GS. 2004.** Farmers are at risk for anxiety and depression: the Hordaland Health Study. *Occupational Medicine (Lond)* 54:92–100.

**Sarko J, 2000.** Antidepressants, old and new. A review of their adverse effects and toxicity in overdose, *Emergency Medicine Clinics North America* 18: 637–654.

**Scalbert A, Williamson G. 2000.** Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*;130:S2073–S85.

**Schlachterman A, Valle F, Kristin M. Wall, Nicolas G. Azios, Linette Castillo, Lymar Morell, A. Valance Washington, Luis A. Cubano and Surangani F. Dharmawardhane. 2008.** Resveratrol, Quercetin, and Catechin Treatment Reduces Breast Tumor Growth in a Nude Mouse Model. *Translational Oncology* 19-27

**Schoeters G & Hoogenboom R., 2006.** Contamination of free-range chicken eggs with dioxins and dioxin-like polychlorinated biphenyls. *molecular nutrition and food research* 50: 908-914

**Schroeter H, Boyd C, Spencer JP, Williams RJ, Cadenas E, Rice-Evans C. 2002.** MAPK signaling in neurodegeneration: influences of flavonoids and of nitric oxide. *Neurobiology Aging* 23:861–380.

**Shadnia S, Dasgar M, Taghikhani S, Mohammadirad A, Khorasani R et Abdollahi M. 2007.** Protective effects of alpha-tocopherol and N-acetyl-cysteine on diazinon induced oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in rats, *Toxicology and Mechanisms Methods*, Vol.17(2): 109–115.

**Sharma Y, Bashir S, Irshad M, Nag TC and Doqra TD. 2005.** Dimethoate-induced effects on antioxidant status of liver and brain of rat following subchronic exposure. *Toxicology* 215 (3):173-181.

**Shimmyo Y, Kihara T, Akaike A, Niidome T, Sugimoto H. 2008.** Flavonols and flavones as BACE-1 inhibitors: structure–activity relationship in cell-free, cell-based and in silico studies reveal novel pharmacophore features. *Biochimica Biophysica Acta (BBA)—Gen Subj*;1780(5):819–25.

**Shobha TR, Prakash O. 2000.** Glycosuria in organophosphate and carbamate poisoning. *Journal Association Physicians India* 48, 1197–1199.

**Siemann EH, Creasy LL. 1992.** Concentration of the phytoalexin resveratrol in wine. *American Journal Enology Viticulture*;43:49-52.

**Sikes RK. 1985.** Neurological findings among workers exposed to fenthion in a veterinary hospital-Georgia. *MMWR* 34:402-403.

**Singh S, Sharma N. 2000.** Neurological syndromes following organophosphate *Neurology India, Vol.48(4):308–313.*

**Sinha K, Chaudhary G, Gupta YK.2002.** Protective effect of resveratrol against oxidative stress in middle cerebral artery occlusion model of stroke in rats. *Life Sciences* 71:655-665.

**Smallridge RC, Carr FE, Fein HG. 1991.** Diisopropylfluorophosphate (DFP) reduces serum prolactin, thyrotropin, luteinizing hormone, and growth hormone and increases adrenocorticotropin and corticosterone in rats: involvement of dopaminergic and somatostatinergic as well as cholinergic pathways. *Toxicology and Applied Pharmacology* 108:284–295.

**Snedeker SM, 2001.** Pesticides and breast cancer risk: a review of DDT, DDE, and dieldrin. *Environmental Health Perspective* 109: 35-47.

**Soleas GJ , Angelini M, Grass L, Diamandis EP, Goldberg DM. 2001,** Absorption of trans-resveratrol in rats. *Methods in Enzymology* 335: 145–154.

**Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM.1997.** Resveratrol: a molecule whose time has come? And gone? *Clinical Biochemistry* 30:91-113.

**Song C, Zhang X, Manku M.2009.** Increased phospholipase A2 activity and inflammatory response but decreased nerve growth factor expression in the olfactory bulbectomized rat model of depression: effects of chronic ethyl-eicosapentaenoate treatment. *Journal of Neurosciences* 29:14–22.

**Spencer JP. 2007.** The interactions of flavonoids within neuronal signalling pathways *Genes Nutrition* 2:257–73.

**Stallones L et Beseler C. 2002.** Pesticide poisoning and depressive symptoms among farm residents. *Annals of Epidemiology* 12: 389-394

**Stepanovic RM, Jokanovic M, Maksimovic M.1998.** Toxicological importance of lymphocyte neuropathy target esterase. *Archives Pharmacology* 358: 5413.

**Stephens R, Spurgeon A, Calvert IA, Beach J, Levy LS, Berry H, Harrington JM. 1995.** Neuropsychological effects of long-term exposure to organophosphates in sheep dip. *Lancet* 345(6):1135–1139.

**Stewart JR, Artime MC, O'Brian CA. 2003.** Resveratrol: a candidate nutritional substance for prostate cancer prevention. *Journal of nutrition* 133:2440-2443

**Stiller-Winkler R, Hadnagy W, Leng G, Straube E, Idel H. 1999.** Immunological parameters in humans exposed to pesticides in the agricultural environment. *Toxicology Letters* 107: 219–224.

**Sudhanshu SS, Sampath M, Gayathri MR.2013.**Neuroprotective effect of resveratrol against prenatal stress induced cognitive impairment and possible involvement of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 103 :520–525

**Sun SW, Yu HQ, Zhang H, Zheng YL, Wang JJ, Luo L. 2007.**Quercetin attenuates spontaneous behaviour and spatial memory impairment in D-galactose-treated mice by increasing brain antioxidant capacity. *Nutrition Research* 27:169–75.

**Suter P, Luetkemeier H, Zakova N.1979.** Life span studies on male and female mice and rats under SPF-Laboratory conditions. *Archives Toxicology*: 403-407

**Taj S, Nagarajan B.1996.** Inhibition by quercetin and luteolin of chromosomal alterations induced by salted, deep-fried fish and mutton in rats. *Mutation Research* 369:97–106.

**Tandon P, Padilia S, Barone S, Pope CN, Tilson HA.1994.** Fenthion produces a persistent decrease in muscarinic receptor in the adult rat retina. *Toxicology and applied Pharmacology* 125:271-281

**Tarek MH, Abdelwaha H, Mossa M, Mona A, Abdelrasoul L, Gehan I, Marei KH.2013.** The ameliorating effect of green tea extract against cyromazine and chlorpyrifos induced liver toxicity in male rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 6: 48-55

**Tayaa H.2014.** Impact de l'exposition gestationnelle au diazinon sur les rattees wistar et sur le neurodéveloppement de leur progéniture. Thèse de doctorat es sciences, pp 107

**Terao J, Packer L, Hiramatsu M, Yoshikawa T. (Eds.), 1999.** Antioxidant Food Supplements in Human Health, Academic Press, New York pp. 255–268.

**Terdthai T, Panakaporn W, Jintanaporn W, Wathita P.2010.** Quercetin Liposomes via Nasal Administration Reduce Anxiety and Depression-Like Behaviors and Enhance Cognitive Performances in Rats. *American Journal of Pharmacology and Toxicology* 5 (2): 80-88

**Tizabi Y, Overstreet DH, Rezvani AH, Louis VA, Clark Jr E, Janowsky DS, Kling MA. 1999.** Antidepressant effects of nicotine in an animal model of depression. *Psychopharmacology* 142:193-199.

**Torres C et Escarabajal MD. 2002.** Validation of a behavioral recording automated system in the elevated plus-maze test. *Life Sciences*. 70: 1751-1762.

**Toumi ML, Merzoug L, Baudin B, Tahraoui A. 2013.** Quercetin alleviates predator stress-induced anxiety-like and brain oxidative signs in pregnant rats and immune count disturbance in their offspring. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 107: 1–10.

**Tredici G, Miloso M, Nicolini G, Galbiati S, Cavaletti G, Bertelli A. 1999.** Resveratrol, map kinases and neuronal cells: might wine be a neuroprotectant? *Drugs Experimental Clinical Research* 25: 99–103.

**Trinder P. 1969.** Cholesterol. *Annals Clinical Biochemistry* 16-24

**Türedi S, Yuluğga S, Alverb A, Kutluc O, Kahraman C. 2015.** Effects of resveratrol on doxorubicin induced testicular damage in rats. *Experimental Toxicology and Pathology* 67(3):229-235.

**Uzun hisarcikli M, Kalender Y. 2011.** Protective effects of vitamins C and E against hepatotoxicity induced by methylparathion in rats. *Ecotoxicology Environmental Safety* 74:2112–2118.

**Valenzano D.R., Terzibasi E., Genade T., A. Cattaneo, L. Domenici, A. 2006.** Cellierino, Resveratrol prolongs lifespan and retards the onset of age-related markers in a shortlived vascular alterations and ageing. *Molecular Nutrition Food* 49:377-395

**Vastano BC, Chen Y, Zhu N, Ho C.T, Zhou Z, Rosen RT. 2000.** Isolation and identification of stilbenes in two varieties of *Polygonum cuspidatum*, *Journal Agriculture and Food Chemistry* 48: 253–256.

**Virgili M, Contestabile A. 2000.** Partial neuroprotection of in vivo excitotoxic brain damage by chronic administration of the red wine antioxidant agent, trans-resveratrol in rats. *Neurosciences Letters*;281:123-136.

**Virginia C M. 1995.** Comparisons of the Acute Effects of Cholinesterase Inhibitors Using a Neurobehavioral Screening Battery in Rats. *Neurotoxicology and Teratology* 17(6) : 617-625

**Virginia C M. 2014. Fenthion.** Reference Module in Biomedical Sciences *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)* 583–585.

**Vissiennon C, Nieber K, Kelber O, Butterweck V. 2012.** Route of administration determines the anxiolytic activity of the flavonols kaempferol, quercetin and myricetin—are they prodrug. *Journal Nutrition Biochemistry* 23(7):733-40

**Vitrac X, Desmouliere A, Brouillaud B, Krisa S, Deffieux G, Barthe N, Rosenbaum J, Merillon JM. 2003.** Distribution of [<sup>14</sup>C]-trans-resveratrol, a cancer chemopreventive polyphenol, in mouse tissues after oral administration. *Life Sciences*. 72: 2219–2233.

**Ward TR, Mundy WR. 1996.** Organophosphorus compounds preferentially affect second messenger systems coupled to M2/M4 receptors in rat frontal cortex. *Brain Research Bulletin*. 39, 49.

**Wen-Qiang C, Li Y, Rui X, Yun-Feng L, Rui-Bin Su, You-Zhi Z, Jin Li. 2011.** Repeated exposure to chlorpyrifos alters the performance of adolescent male rats in animal models of depression and anxiety. *NeuroToxicology* 32: 355–361

**Wen-Qiang C, You-Zhi Z, Li Y, Yun-Feng Li, Jin Li. 2014.** Neurobehavioral evaluation of adolescent male rats following repeated exposure to chlorpyrifos. *Neuroscience Letters* 570: 76–80

**WHO. 1996.** Principles and methods for assessing direct immunotoxicity associated with exposure to chemicals. *Environmental Health Criteria*. vol. 180, WHO, Geneva, pp. 110–112.

**WHO. 2004.** Specifications and evaluations for public health pesticide, fenthion.

**Williams RJ, Spencer JP, Rice-Evans C. 2004.** Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? *Free Radical Biology and Medicine* 36:838–849.

**Willner P. 1990.** Animal models of depression: an overview. *Pharmacology Therapy* 45, 425–455.

**Wilms LC, Kleinjans JCS, Moonen EJC, Briede JJ. 2008.** Discriminative protection against hydroxyl and superoxide anion radicals by quercetin in human leucocytes *in vitro*. *Toxicology in Vitro* 22:301–7.

**Wood AJ, Smith CE, Clarke EE, Cowen PJ, Aronson JK, Grahame-Smith DG. 1991.** Altered *in vitro* adaptive responses of lymphocyte+-ATPase in patients with manic depressive psychosis. *Journal of Affective Disorders* 21:199–206.

**Yáñez M, Fraiz N, Cano E, Orallo F. 2006a.** Inhibitory effects of cis- and trans-resveratrol on noradrenaline and 5-hydroxytryptamine uptake and on monoamine oxidase activity. *Biochemica Biophysica Research*. 344: 688–695.

**Yazir Y, Utkan T, Gacar N, Aricioglu F. 2015.** Resveratrol exerts anti-inflammatory and neuroprotective effects to prevent memory deficits in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. *Physiology & Behavior* 138:297–304

**Ying HZ, Liu Y.H, Yu B, Wang ZY, Zang JN, Yu CH. 2013.** Dietary quercetin ameliorates nonalcoholic steatohepatitis induced by a high-fat diet in gerbils. *Food and Chemical Toxicology* 52: 53–60

**Ying X, Zhichao W, Wenting Y, Xiuhua Z, Shan L, Philip A. Barish a, Matthew M. Vernon XD, Gaowen L, Jianchun P, William OO. 2010.** Antidepressant-like effect of trans-resveratrol: Involvement of serotonin and noradrenaline system. *European Neuropsychopharmacology* 20: 405–413

**Young D., Pestaner L., 1975.** Triglycerides. *Clinica Chemica Acta* 21:5

**Yousef MI, El-Demerdash FM, Kamel KI, Al-Salhen KS, 2003b.** Changes in some hematological and biochemical indices of rabbits induced by isoflavones and cypermethrin. *Toxicology*. 2003b; 189: 223–234.

**Yousef MI, Awad TI, Mohamed EH. 2006.** Deltamethrin-induced oxidative damage and biochemical alterations in rat and its attenuation by vitamin E. *Toxicology* 227:240–247.

**Yu C , Shin YG, Chow A, Li Y, Kosmeder JW , Lee YS. , Hirschelman WH, Yu CS, Lai KC, Yang JS, Chiang JH, Lu CC, Wu CL, et al. 2010.** Quercetin inhibited murine leukemia WEHI-3 cells *in vivo* and promoted immune response. *Phytotherapy Research* 24:163–8.

**Yusufhan Y, Tijen U, Nejat G, Feyza A. 2015.** Resveratrol exerts anti-inflammatory and neuroprotective effects to prevent memory deficits in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. *Physiology & Behavior* 138: 297–304

**Zaahkouk SAM, Helal EGE, Abd-Rabo TEI, Rashed SZA.2000.** Carbamate toxicity and protective effect of vit. A and vit.E on some biochemical aspects of male albino rats. *Egyptian Journal Hospital medicine* 1:60–77.

**Zadik Z, Blachar Y, Barak Y, Levin S, 1983.** Organophosphate poisoning presenting as diabetic ketoacidosis. *Journal of clinical Toxicology* 20:381–385.

**Zhang W, Chunyu Y , Ming G, Jiangdong X, Dexing M, Yan L, Jianyu L, Zhigang Z. 2013.** Attenuation of arsenic retention by resveratrol in lung of arsenic trioxide-exposed rats. *Environmental toxicology and pharmacology* 36:35–39

**Zhang W, Jiangdong X, Ming G, Meiling Y, Lian L, Zhigang Z.2013.** Resveratrol attenuates hepatotoxicity of rats exposed to arsenic trioxide. *Food and Chemical Toxicology* 51:87–92

**Zheng X, Shenyin Z, Shufang C, Yannia C, JieDong E , Juan L, RuiLong YZ.2013.** Protective effects of chronic resveratrol treatment on vascular inflammatory injury in streptozotocin-induced type2 diabetic rats: RoleofNF-kappaB signaling . *European Journal of Pharmacology*720:147–157

**Zipkin JG, Chung P, Kisielewski A, Zhang LL, Scherer B, Sinclair DA, 2003.** Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan, *Nature* 425: 191–196.