

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université ABOU BEKR BELKAID -TLEMCE-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la
Terre et de l'Univers
Département d'agronomie

Laboratoire de Recherche Physiologie,
Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition

THESE

Présentée par : **Mme HOCINE BENYOUB Leila**

En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat

Option: **Nutrition**

Thème

**Evaluation des effets métaboliques de la
consommation d'un régime contenant des insecticides
chez la rate « Wistar » gestante obèse ou non**

Soutenue le : 27/04/2017, devant le jury composé de :

Président :	Mme MOKHTARI Nassima	Professeur, Université de TLEMCE
Promotrice :	Mme MERZOUK Hafida	Professeur, Université de TLEMCE
Examinatrice :	Mme BENBAYER Zoubida	Professeur, Université d'ORAN
Examinatrice :	Mme KASSOUAR Schahrazed	MCA, Université d'ORAN
Examinatrice :	Mme BOUANANE Samira	Professeur, Université de TLEMCE

Année universitaire : 2016-2017

À mes parents,

À mon mari et mon fils Abderrahmane,

À Samir, Lokha et kouki,

À mes beaux parents,

À Imene et Fafa,

À toute ma famille et mes amis.

Remerciements

Je remercie tout d'abord ALLAH qui m'a permis d'en arriver là ce jour, je dis « ALHAMDOULILAH ».

Les recherches qui font l'objet de cette thèse de doctorat ont été réalisées au sein du Laboratoire physiologie, physiopathologie et biochimie de la nutrition, complexe biomédical Imama, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, Université ABOU BEKR BELKAID Tlemcen.

*Je souhaite témoigner ma reconnaissance à **Madame MERZOUK Hafida**, professeur à l'université ABOU BEKR BELKAID Tlemcen, pour avoir encadré ce travail. Je la remercie particulièrement pour sa rigueur scientifique, son exigence, sa disponibilité et ses encouragements, en me faisant partager son expérience et ses connaissances scientifiques. Elle a assuré un encadrement d'une rare qualité scientifique et humaine. Ses précieux conseils, remarques et critiques pertinentes et constructives m'ont guidée tout au long de la thèse. A la fierté et à la chance d'avoir été votre étudiante vient maintenant s'ajouter la difficulté d'être à la hauteur de tout ce que vous m'avez apportée, et, croyez-moi, la pression est grande. Merci.*

J'exprime ensuite mon estime et mes remerciements aux membres de mon jury :

*A **Mme MOKHTARI Nassima**, Professeur à l'Université de Tlemcen, qui a bien voulu accepter de présider ce jury.*

*A **Mme BENBAYER Zoubida**, professeur à l'Université d'Oran, pour avoir accepté de consacrer du temps à examiner et juger ce travail.*

*J'adresse mes sincères remerciements à **Mme KESSOUAR Shahrzad**, Maitre de conférence de classe A à l'Université d'Oran, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant d'examiner mon travail.*

*Je remercie énormément **Mme BOUANANE Samira**, Professeur à l'Université de Tlemcen, qui a bien voulu accepter d'examiner ma thèse de doctorat.*

Et de me faire ainsi bénéficier de leurs compétences et de leurs connaissances.

*J'exprime mes remerciements au Professeur **MERZOUK SA**, Département de Technologie à l'Université ABOU BEKR BELKAID Tlemcen, pour son aide dans l'analyse statistique.*

Enfin, je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Valorisation des travaux de recherches

Le travail exposé dans cette thèse de doctorat a fait l'objet de publications scientifiques et a été présenté lors de congrès internationaux et nationaux.

Publications scientifiques:

Hocine L, Merzouk H, Merzouk SA, Ghorzi H, Youbi M, Narce M (2016). The effects of alpha-cypermethrin exposure on biochemical and redox parameters in pregnant rats and their newborns. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. <http://doi.org/10.1016/j.pestbp.2016.04.007>.

Hocine L, Merzouk H (2015). Stress oxydatif chez la progéniture de rat obèse sous régime hypergras. *Editions Universitaires Européennes*. OmniScriptum GmbH & Co.KG.

Hocine L, Merzouk H, Merzouk SA (2012). Altérations métaboliques chez la progéniture de rates obèses nourries au régime cafeteria. *Bulletin Ortho*. 3: 99-103.

Communications scientifiques:

Forum sur les sciences de la nature, Tlemcen, Algérie. 14-16 mai 2012.

Hocine L, Merzouk H. Effets d'un régime hypergras sur les marqueurs du stress oxydatif chez la progéniture des rates obèses.

Séminaire international : cancer, stress cellulaire et substances bioactives, Jijel, Algérie. 23-24 septembre 2012.

Hocine L, Merzouk H. Altération du statut redox chez la progéniture de rates obèses.

Rencontre des femmes scientifiques méditerranéennes, (REFSCIME 2013). Skikda, Algérie. 15-16 Avril 2013.

Hocine L, Merzouk H. Augmentation du poids et altérations métaboliques chez la progéniture de rates nourries avec un régime hypergras.

Forum sur le développement des sciences de la vie et de l'univers, Tlemcen, Algérie. 14-15 mai 2013.

Hocine L, Ghorzi H, Merzouk H. Effets des pesticides sur le gain pondéral, alimentation ingérée et apport énergétique chez la rate wistar gestante.

1^{ère} Journée scientifique des sciences de l'agriculture, environnement et santé, Tlemcen, Algérie. 03 juin 2014.

Ghorzi H, **Hocine L**, Merzouk H. La toxicité à long terme de l'alpha-cyperméthrine chez les rats wistar males.

2^{ème} Journée scientifique des sciences de l'agriculture, environnement et santé, Tlemcen, Algérie. 15 avril 2015.

Hocine L, Ghorzi H, Merzouk H. Caractérisation de certains paramètres biochimiques chez la rate gestante consommant un régime contenant l'alpha-cyperméthrine.

2^{ème} Journée scientifique des sciences de l'agriculture, environnement et santé, Tlemcen, Algérie. 15 avril 2015.

Ghorzi H, **Hocine L**, Merzouk H. Effet de l'alpha-cyperméthrine sur le gain pondérale, la nourriture ingérée et l'apport énergétique chez le rat wistar.

5^{ème} congrès de biologie médicale et médecine de laboratoire, Alger, Algérie. 18-19 mai 2015.

Hocine L, Ghorzi H, Merzouk H, Merzouk SA. Pesticides et santé.

First international congress of nutrition and food science « From bench to bedside », Tlemcen, Algérie. 20-22 novembre 2015.

Hocine L, Merzouk H. Early programming and altered redox status in offspring of obese rates.

Abstract

Pyrethroid insecticides are extensively used in agriculture and in household activities. During pregnancy, they might affect maternal metabolic status and there after fetal development. In this work, we studied metabolic and redox effects of low dose alpha-cypermethrin exposure in pregnant obese rats. The diet containing alpha cypermethrin at 0.02 mg/kg/day was consumed before and during the entire gestation. Plasma and tissue biochemical parameters, tissue enzyme activities and oxidative stress markers were determined.

Our results showed that alpha-cypermethrin associated with obesity induced an increase in body weight, hyperglycemia and hyperlipidemia, with elevated plasma levels of aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and alkaline phosphatase activities, and a reduction in adipose tissue fatty acid synthase activity. In addition, an impaired tissue oxidant / antioxidant status was observed in pregnant obese rats treated by the insecticide, shown by increased plasma, erythrocyte and tissue levels of malondialdehyde (MDA) and carbonyl proteins and a significant reduction in catalase and superoxide dismutase (SOD) activities and in reduced glutathione (GSH) contents.

In conclusion, low dose alpha-cypermethrin exposure induced several metabolic and redox alterations leading to maternal physiological impairments and those disturbances can be transmitted to offspring. Alpha-cypermethrin should be used with caution especially during pregnancy.

Keywords: alpha-cypermethrin, metabolism, pregnancy, oxidative stress, rat, obesity.

Résumé

Ces dernières décennies, les insecticides de la famille des pyréthrinoides sont largement utilisés dans l'agriculture et dans les activités domestiques. Pendant la grossesse, ils peuvent affecter l'état de santé maternelle et provoquer des altérations métaboliques conduisant à l'altération du développement fœtal et par la suite l'apparition de maladies métaboliques à l'âge adulte. Dans ce travail, nous avons étudié l'effet métabolique et redox de l'exposition à une faible dose de l'alpha-cyperméthrine chez les rates obèses gestantes. Le régime alimentaire contenant de l'alpha-cyperméthrine à 0,02 mg / kg / jour a été consommé avant et pendant la gestation. Les paramètres biochimiques sériques et tissulaires, les activités des enzymes tissulaires et les marqueurs de stress oxydatif ont été déterminés.

Nos résultats ont montré que l'alpha-cyperméthrine associé à l'obésité induit une augmentation du poids corporel, une hyperglycémie et une hyperlipidémie avec une élévation de l'activité plasmatique de l'aspartate aminotransférase, l'alanine aminotransférase et de la phosphatase alcaline et une réduction de l'activité de l'enzyme adipocytaire acide gras synthétase. De plus, l'équilibre oxydant/antioxydant est altéré chez les rates obèses gestantes traitées par l'insecticide, marqué par une augmentation plasmatique, érythrocytaire et tissulaire des taux de malondialdéhyde (MDA) et des protéines carbonylées et une réduction significative de l'activité de la catalase, la superoxyde dismutase (SOD) et du taux de glutathion réduit (GSH).

En conclusion, l'exposition de l'alpha-cyperméthrine à faible dose induit plusieurs altérations métaboliques et un stress oxydatif conduisant à des déficiences physiologiques maternelles qui peuvent être transmis à sa progéniture. L'Alpha-cyperméthrine doit être utilisé avec prudence, surtout pendant la grossesse.

Mots clés : alpha-cyperméthrine, métabolisme, gestation, stress oxydatif, rat, obésité.

ملخص

في العقود الأخيرة، يتم استخدام المبيدات الحشرية من أسرة البيريثرويد على نطاق واسع في الزراعة والاستعمالات المنزلية. خلال فترة الحمل، المبيدات الحشرية يمكن أن تؤثر على صحة الأم وتسبب تغيرات التمثيل الغذائي مما يؤثر على نمو الجنين واحتمال ظهور بعض الأمراض لاحقا في مرحلة البلوغ. في هذا العمل، قمنا بدراسة تأثير التعرض لجرعة منخفضة من ألفا-سايبيرمثرين على التمثيل الغذائي ونظام الأكسدة عند الفئران الحوامل الذين يعانون من السمّة المفرطة. الفئران كانت تستهلك غذاء يحتوي على ألفا سايبيرمثرين (0.02 ملغ / كغ / يوم) قبل وأثناء الحمل. قمنا بتحديد القياسات البيوكيميائية وعلامات الإجهاد التأكسدي على مستوى المصل والأنسجة. أظهرت النتائج التي توصلنا إليها أن التعرض للمبيد الحشري ألفا سايبيرمثرين في حالة وجود السمّة المفرطة يؤدي إلى زيادة في وزن الجسم، مع ارتفاع تركيز السكر والدهون في الدم زد على ذلك مستويات مرتفعة لنشاط الألانين اسبارتاتي، الألانين ألانين و الفوسفاتيز القلوية. بياناتنا تظهر اختلال في توازن عوامل الأكسدة /مضادات الأكسدة عند الفئران الحوامل الذين يعانون من السمّة المفرطة عند تعرضهم للمبيدات الحشرية، لاحظنا على مستوى البلازما، الخلايا الدموية و الانسجة ارتفاع نسبة (protéines carbonylées, malondialdéhyde) ويرافقه انخفاض كبير في نشاط الكنتالاز (SOD,GSH) وفي الختام، التعرض لجرعة منخفضة من ألفا سايبيرمثرين ينجم عليه العديد من التغيرات الأيضية والأكسدة مما يؤدي إلى اضطرابات فسيولوجية للأمهات من الممكن أن تنتقل إلى الأبناء. لذلك ينبغي أن تستخدم ألفا سايبيرمثرين بحذر، و خصوصا أثناء فترة الحمل.

كلمات البحث: ألفا-سايبيرمثرين، التمثيل الغذائي، الحمل، الإجهاد التأكسدي، الفئران، السمّة.

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique	LDH : lactate déshydrogénase
AGL : acide gras libre	LDL : low density lipoprotein
ALP : alcaline phosphatase	LHS : lipase hormono-sensible
ALT : alanine transaminase	LMR : limite maximale de résidus
Arfd : Dose de référence aigüe	LPL : lipoprotéine lipase
ATP : adénosine triphosphate	LTC : lambda-cyhalothrine
ARN : acide ribonucléique	MDA : malondialdéhyde
AST : aspartate transaminase	NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide
CAT : catalase	NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
CI : cafeteria insecticide	NaCl : chlorure de sodium
CS : cafeteria standard	NO : oxyde nitrique
DDE : Dichlorodiphényldichloroéthylène	OMS : organisation mondiale de santé
DDT : dichlorodiphényltrichloroéthane	3-PBA : 3-phenoxybenzoic acid
DSE : dose sans effet	PBDE : polybromés éthers diphényles
DJA : dose journalière admissible	PBS : phosphate buffering saline
DL ₅₀ : dose létale	PCB : les biphényles polychlorés
EDTA : acide éthylène-diamine-tétraacétique	PKA : protéine kinase A
EOA : espèces oxygénées activées	PKG : protéine kinase G
FAS : fatty acid syntase	QI : quotient intellectuel
FAO : Food and Agriculture Organization	SOD : superoxyde dismutase
GABA : gamma aminobutyric acid	TCA : acide trichloroacétique
GC-MS: La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse	TI : témoin insecticide
GDPH : glycérol 3 phosphate déhydrogénase	TG : triglycéride
GPx : glutathion peroxydase	TS : témoin standard
GSH : glutathion réduit	TSH : <i>thyroid-stimulating hormone</i>
GST : glutathion-s-transférase	UI : unité international
HDL : high density lipoprotein	VLDL : very low density lipoprotein
Hcl : chlorure d'hydrogène	
H ₂ O ₂ : peroxyde d'hydrogène	
Ig E : immunoglobuline E	
IMC : indice de masse corporel	

Liste des Figures

Figure 1. Mode d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides	10
Figure 2. Transfert des pesticides dans les compartiments de l'environnement après traitement	14
Figure 3. Mode d'action des Pyréthrinoides sur les neurones	17
Figure 4. Teneurs sériques en glucose, protéines totales, urée, acide urique et créatinine chez les rates	41
Figure 5. Teneurs sériques en lipides chez les rates	42
Figure 6. Marqueurs plasmatiques et érythrocytaires du statut antioxydant chez les rates	46
Figure 7. Marqueurs plasmatiques et érythrocytaires du statut oxydant chez les rates	47
Figure 8. Balance redox du foie et du tissu adipeux chez les rates	48
Figure 9. Activités des enzymes adipocytaires acyl CoA déhydrogénase, FAS et G3PDH chez les rates	51
Figure 10. Activités sériques des enzymes transaminases (GPT, GOT) et de la phosphatase alcaline (ALP)	53

Liste des Tableaux

Tableau 1. Exemples de cibles biologiques des pesticides	9
Tableau 2 : Pyréthrinés et Pyréthrinoides	17
Tableau 3. Propriétés physicochimiques de l'insecticide utilisé	25
Tableau 4. Composition des régimes consommés par les rats	27
Tableau 5. Poids corporel des rates et leurs nouveau-nés, gain pondéral, consommation alimentaire et apport énergétique	38
Tableau 6. Poids des organes chez les mères	39
Tableau 7. Teneurs en protéines et en lipides (mg/g) des organes (Foie, tissu adipeux, muscle, cerveau et reins) chez les rates	43
Tableau 8. Balance redox du muscle, du cerveau et des reins chez les rates	49
Tableau 9. Activités des lipases chez les rates	52

Listes des Tableaux en Annexe

Tableau A1 : Teneurs sériques du glucose, lipides, protéines totales, urée, l'acide urique et la créatinine	104
Tableau A2 : Marqueurs plasmatiques et érythrocytaires du statut antioxydant	104
Tableau A3 : Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en malondialdéhyde et protéines carbonylées	105
Tableau A4 : Teneurs tissulaires en malondialdéhyde, protéines carbonylées et glutathion réduit	106
Tableau A5 : Activités des enzymes tissulaires de l'acyl CoA dehydrogenase, FAS et G3PDH	107
Tableau A6 : Activités plasmatiques des enzymes transaminases (GPT, GOT) et de la phosphatase alcaline (ALP)	107

SOMMAIRE

Introduction	1
Etat actuel sur le sujet	6
1. Pesticides	6
1.1. Définition	6
1.2. Composition	6
1.3. Classification des pesticides	7
1.4. Dangers de l'emploi des pesticides à usage agricole	10
1.4.1. Dangers liés à la santé humaine	10
1.4.1.1. L'exposition professionnelle	10
1.4.1.2. Les femmes enceintes ou susceptible de l'être	12
1.4.1.3. Les enfants	12
1.4.2. Dangers liés à l'environnement	12
1.5. Toxicité des pesticides	13
1.5.1. Toxicité aiguë	13
1.5.2. Toxicité chronique	13
* dose journalière admissible	13
* dose sans effet	15
* dose de référence aiguë	15
* la limite maximale des résidus	15
2. Pyrethrinoides et leur mode d'action	15
2.1. Définition	15
2.2. Classification et mode d'action	15
3. Effets métaboliques des pesticides	16
3.1. Effets métaboliques des pesticides au cours de la grossesse	18
3.2. Pesticides et stress oxydatif	19
3.3. Pesticides et accumulation	21
Matériel et méthodes	24
1. Protocole expérimental	25
1.1. Choix du pesticide	25
1.2. Préparation de l'insecticide et des régimes	26
2. Sacrifices et prélèvements de sang et d'organes	26
3. Description des méthodes utilisées	28
3.1. Dosage du cholestérol total	28
3.2. Dosage des triglycérides	28
3.3. Dosage du glucose	29
3.4. Dosage des protéines totales	29
3.5. Dosage de l'urée	29
3.6. Dosage de l'acide urique	29
3.7. Dosage de la créatinine	30
3.8. Dosage des protéines tissulaires	30
3.9. Détermination du statut oxydant/antioxydant	30
3.9.1. Dosage de la vitamine C	30
3.9.2. Détermination de l'activité enzymatique antioxydante catalase	30
3.9.3. Dosage de l'activité du superoxyde dismutase	31
3.9.4. Dosage de glutathion réduit	31
3.9.5. Détermination des protéines carbonylées	31
3.9.6. Détermination du malondialdéhyde	32
4. Détermination des activités enzymatiques	32
4.1. Détermination de l'activité de la lipoprotéine lipase	32
4.2. Détermination de l'activité de la lipase hormono-sensible	32

4.3.Détermination de l'activité de l'enzyme glycérol 3 phosphate déshydrogénase	33
4.4.Détermination de l'activité de l'enzyme acide gras synthétase	33
4.5.Détermination de l'activité de l'enzyme acyl coA déshydrogénase	34
4.6.Détermination de l'activité enzymatique des transaminases	34
4.7.Détermination de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline	35
5.Analyse statistique	35
Résultats et interprétations	36
1. Poids corporel des rates et leurs nouveau-nés, gain pondéral, consommation alimentaire et apport énergétique	37
2.Poids des organes chez les rates	37
3. Paramètres biochimiques chez les rates	37
3.1.Teneurs sériques en glucose, protéines totales, urée, acide urique et créatinine chez les rates	37
3.2. Teneurs sériques en lipides chez les rates	40
4.Teneurs en protéines et en lipides des organes (Foie, tissu adipeux, muscle, cerveau et rein) chez les rates	40
5.Statut oxydant/antioxydant chez les rates	44
5.1.Marqueurs plasmatiques et érythrocytaires du statut antioxydant chez les rates	44
5.2.Marqueurs plasmatiques et érythrocytaires du statut oxydant chez les rates	44
5.3.Balance redox du foie et du tissu adipeux chez les rates	45
5.4.Balance redox du muscle, du cerveau et des reins chez les rates	45
6.Activités enzymatiques chez les rates	50
6.1.Activités des enzymes adipocytaires acyl CoA déshydrogénase, FAS et G3PDH chez les rates	50
6.2.Activités des lipases	50
6.3.Activités sériques des enzymes transaminases (GPT, GOT) et de la phosphatase alcaline (ALP)	50
Discussion	54
Conclusion	73
Références bibliographiques	77
Annexe	103

INTRODUCTION

Avant l'utilisation des produits phytosanitaires, les systèmes de culture étaient conçus pour assurer le meilleur compromis entre le risque phytosanitaire et le potentiel de production de la culture. Cependant, les pertes en rendement des productions agricoles dues aux maladies, aux ravageurs et aux adventices (ou mauvaises herbes) pouvaient atteindre des proportions importantes. Faciles d'accès et d'emploi, relativement peu chers, les produits phytosanitaires de synthèse se sont révélés très efficaces et fiables dans un nombre important de cas, sur de grandes surfaces (Aubertot et al, 2005).

Après la seconde guerre mondiale, les pesticides ont permis le développement de l'agriculture, certains experts estiment que l'augmentation des rendements des terres agricoles a permis de limiter la déforestation et donc de préserver 50% de la surface de la forêt actuelle en 50 ans (Wingfield et al., 2015).

Si l'utilisation de ces produits est souvent nécessaire pour que les producteurs agricoles atteignent leurs objectifs de production, il demeure important de rappeler que les pesticides sont des produits toxiques et qu'ils doivent être utilisés de façon rationnelle et sécuritaire (Onil et Saint-laurent, 2001).

La FAO rapporte qu'il y a eu une utilisation accrue de ces substances puissantes en agriculture au cours des dernières décennies (FAO, 2016).

Néanmoins, le recours systématique aux produits phytosanitaires peut s'avérer dangereux pour l'homme, qu'il soit applicateur des pesticides ou consommateur des produits agricoles et pour l'environnement (Quandt et al., 2015).

Les pesticides peuvent entrer en contact avec de la nourriture par l'application directe pendant la production, le transport ou le stockage. Une fois dans le corps, ces composés peuvent avoir un effet sur le système endocrinien, un effet tératogène, une action immunosuppressive, et peuvent aussi causer un syndrome neurologique chronique, des tumeurs, des avortements et la diminution de la fertilité chez les animaux expérimentaux (Meeker et al., 2006).

Le marché mondial des pesticides est globalement stable depuis quelques années et représente actuellement 40,50 milliards de dollars. L'Europe est le plus gros consommateur (avec 31,70% du marché) devant l'Asie (23,10%), les Amériques (Sud: 21%; Nord: 20,60%) et l'Afrique (3,80%). Au niveau des cibles des produits, ce sont les herbicides qui sont le plus utilisés mondialement (47%) devant les fongicides (26%), les insecticides (24%) et les divers (rodenticides, molluscicides...) (UIPP, 2009).

L'agriculture algérienne a aussi développé des systèmes de production fondés sur l'utilisation de ces produits. Elle apparaît actuellement très dépendante des pesticides. La production et le commerce des pesticides en Algérie ont été évalués au cours de la

réalisation d'un profil national pour l'évaluation des capacités de gestion rationnelle des produits chimiques en 2006 par le Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement. Les résultats montrent une production nationale importante (poudre: 3745 tonnes /an; liquide: 2617 10³ litres/an; insecticides: 13676 boites/an) pour une valeur de 1912 10⁶ DA. Concernant l'importation, l'Algérie importe 8927 tonnes/ an pour une valeur de 4418 10⁶ DA, et exporte des produits pour une valeur de 7 10⁶ DA. Ces chiffres montrent l'importante utilisation des pesticides en Algérie et le risque encouru où des enjeux humains, économiques et environnementaux peuvent être atteints.

On peut classer les pesticides selon leur mode d'action comme les herbicides, insecticides, fongicides..., ou bien, selon leur composition chimique comme les organochlorés, carbamates (amides), pyréthrinoides, triazines... Chaque produit possède une spécificité d'action et donc une toxicité particulière.

Les pyréthrinoides de synthèse sont venus remplacer ou diminuer l'utilisation des organophosphorés et les organochlorés, puisqu'ils sont efficaces contre une grande gamme d'insectes et sont plus au moins toxiques pour les mammifères et les oiseaux. Leur durée de vie dans l'environnement est moins importante par rapport aux autres familles d'insecticides (Ray, 1991). Malheureusement, ces produits peuvent aussi être toxiques pour des organismes non visés dont l'humain. Ils peuvent être nuisibles pour la santé et l'environnement à cause de leur toxicité, notamment chronique en cas de persistance et d'accumulation dans les tissus organiques.

L'accumulation de ces xénobiotiques dans les tissus, notamment le tissu adipeux puisqu'ils sont lipophiles peut être à l'origine d'apparition de plusieurs désordres métaboliques et maladies. En effet, ces polluants organiques persistants sont des composés lipophiles stockés principalement dans la masse graisseuse, ce qui explique leur demi-vie longue (environ 10 ans) (Kim et al., 2012). Plusieurs études épidémiologiques mettent l'accent sur le rôle possible des polluants dans l'obésité et le syndrome métabolique.

Les maladies métaboliques et l'obésité sont accompagnés d'une modification importante des fonctions du tissu adipeux comme un état d'inflammation chronique dans lequel les adipocytes et d'autres cellules (par exemple, les cellules endothéliales, les cellules immunitaires, les pré-adipocytes) jouent un rôle en produisant des médiateurs inflammatoires (Goldberg, 2009). Ces molécules contribuent à une perturbation de dialogue paracrine entre les cellules, en favorisant une inflammation locale et une altération du métabolisme telle que la résistance à l'insuline (Dalmas et al., 2011). En effet, la distribution tissulaire des contaminants dans l'organisme est fonction de la teneur en lipides des différents organes (Serghini et al., 2004).

L'induction de stress oxydatif est l'un des principaux mécanismes d'action de plusieurs pesticides, les dommages apportés aux membranes cellulaires, aux lipides, aux protéines et également à l'ADN sont des biomarqueurs essentiels de l'effet oxydant des pesticides, et ceci par la génération de radicaux libres et l'altération du système enzymatique anti-oxydant.

Qu'il soit producteur, agriculteur ou consommateur, le risque lié aux pesticides est le même. Plusieurs études ont été effectuées sur l'homme et l'animal pour mieux comprendre et éclaircir ce problème. En effet, la majorité des études précédentes montrent que l'utilisation de pesticides comporte des risques graves pour la santé de l'Homme et pour l'environnement, même à faible dose. De plus, les mécanismes de toxicité et les facteurs de sensibilité restent encore incompréhensibles. Les études s'adressant à la population générale et s'intéressant aux expositions domestiques ou environnementales, en particulier à des moments critiques de la vie, sont amenées à se développer. Les groupes les plus vulnérables, en particulier les femmes enceintes, les nourrissons et les enfants, devront faire l'objet d'une attention toute particulière.

Les effets à long terme ou retardés des pesticides sur la santé sont une préoccupation croissante des autorités sanitaires et éveillent de nombreuses inquiétudes de la part du grand public. Il est donc important de répondre à ces interrogations, même si les connaissances acquises restent partielles et incomplètes. Quelques certitudes ont été acquises pour certains pesticides qui, fort heureusement, ne sont plus employés (Multigner, 2005).

La grossesse est un état physiologique particulier au cours duquel l'organisme maternel subit des modifications importantes liées aux besoins métaboliques du fœtus. Ces adaptations physiologiques résultent d'interactions biochimiques entre l'organisme maternel, le placenta et le fœtus. L'exposition maternelle aux pesticides peut affecter le métabolisme maternel et induire par conséquent des anomalies lors du développement fœtal (Ueker et al., 2016). En effet, pendant la grossesse, les femmes sont particulièrement vulnérables. De nombreuses études épidémiologiques suggèrent que le développement de l'enfant, à court et moyen terme est mis à risque lors d'une exposition aux pesticides pendant la grossesse. L'augmentation de fausses couches tout comme le risque de malformations congénitales et d'atteintes neurologiques ne fait plus aucun doute selon certaines études. D'autres études mettent en évidence le lien entre pesticides et un risque élevé de leucémie et de tumeurs cérébrales (Ueker et al., 2016 ; Wang et al., 2016b).

L'exposition de rats femelles aux pesticides pendant la gestation provoque des atteintes hépatiques qui se manifestent par l'augmentation du taux de certaines enzymes (LDH, ALP, AST, ALT) (Zama et al., 2005). Aussi, Beuret et al. (2005)

rappellent que l'ingestion du glyphosate induit une peroxydation lipidique sérique et hépatique provoquant ainsi un épuisement des systèmes de défense antioxydant. Aussi des études expérimentales ont montré que certaines substances peuvent promouvoir l'héritage d'une maladie par héritage trans-générationnel épigénétique. L'épigénétique est l'étude des variations héréditaires de l'expression génique (activation / désactivation des gènes) qui se produisent sans modification de la séquence d'ADN.

Anway et Skinner (2006) ont rapporté que l'exposition des rats à la vinclozoline (fongicide anti-androgène) a eu des effets négatifs importants pour la progéniture sur les quatre générations suivantes. Il est donc possible que ce soit l'un des mécanismes par lesquels les pesticides peuvent affecter la santé humaine. L'exposition au perfluorooctane sulfonate (SPFO) pendant la gestation a conduit à des modifications physiologiques importantes chez le rat et la souris qui sont des indicateurs de toxicité maternelle (Lau et al., 2003). Il a été démontré que les pesticides comme les chlorophénols, les acides chlorophénoxy, les organochlorés et les quinones modifient la fonction de la glande thyroïde et réduisent le niveau circulant d'hormones thyroïdiennes (Van den Berg et al., 1991).

De récentes revues de la littérature montrent que même à faible dose, l'exposition prénatale à certains pesticides pourrait conduire à des effets néfastes sur le développement neurologique des enfants, telle qu'une altération du développement cognitif ou une diminution du quotient intellectuel (QI) (London et al., 2012). D'autre part, Raslan et EL-Said (2011) démontrent l'apparition d'un stress oxydatif et des altérations histologiques chez la progéniture de rats exposés pendant et après gestation aux chloropyrifos.

Ainsi, les pesticides peuvent avoir plusieurs effets sur la santé, et de ce fait altérer la qualité de vie de la femme enceinte et affecter par la suite le développement du fœtus. Les pyrethrinoides, notamment l'alpha-cyperméthrine, sont des insecticides largement utilisés, mais leur toxicité au cours de la gestation reste encore méconnue.

Le but de notre travail de recherche dans le cadre de cette thèse de doctorat est d'évaluer les effets métaboliques et toxiques de l'exposition aux pyrethrinoides, l'alpha-cyperméthrine, au cours de la grossesse. De plus, comme ces insecticides sont lipophiles et s'accumulent dans le tissu adipeux, leur nocivité peut être accentuée dans le cas particulier de la grossesse associée à l'obésité maternelle. Pour cela, nous avons utilisé le modèle animal expérimental, la rate Wistar gestante, obèse ou non. L'obésité chez la rate gestante est induite par un régime de laboratoire hyper-lipidique et hypercalorique appelé régime cafeteria.

Ainsi, les objectifs de notre travail sont les suivants:

- déterminer les paramètres biochimiques et tissulaires chez les rates Wistar gestantes nourries avec un régime standard contenant l'insecticide alpha-cyperméthrine à faible dose.

- analyser le statut oxydant-antioxydant des rates Wistar gestantes nourries avec le régime contenant l'insecticide alpha-cyperméthrine.

Dans ce cas, les effets métaboliques et redox de l'insecticide au cours de la gestation seront mis en évidence.

- déterminer les paramètres biochimiques, tissulaires et la balance oxydante antioxydante chez les rates gestantes obèses nourries avec le régime cafeteria contenant l'insecticide alpha-cyperméthrine à faible dose.

Dans ce cas, les effets métaboliques et redox de l'insecticide au cours de la gestation associée à l'obésité maternelle seront analysés.

Nous essayerons dans notre étude d'éclaircir les différentes altérations métaboliques observées pendant cette période critique de la vie, et voir l'effet nocif de l'insecticide accentué par l'obésité au cours de la gestation.

ETAT ACTUEL SUR LE SUJET

Les pesticides sont largement répandus dans l'environnement. On sait qu'ils sont présents dans les aliments, dans l'eau, dans l'air et dans les sols. On sait moins qu'ils sont aussi présents dans notre sang, dans nos réserves adipeuses et dans le lait maternel. Pire, il est maintenant prouvé que le fœtus est déjà contaminé par les pesticides que la mère absorbe chaque jour. Les effets à long terme de cette pollution insidieuse commencent seulement à se manifester avec la baisse de la fertilité masculine, les malformations à la naissance, l'augmentation de certains cancers, les perturbations de l'équilibre hormonal et du développement du système nerveux, les modifications du comportement et la diminution des défenses immunitaires. Et si, dans les pays riches, le pire est sans doute à venir, dans les pays pauvres le désastre est quotidien. Les empoisonnements, souvent mortels, sont le lot commun des petits paysans qui manipulent, souvent sans précautions, des produits dont ils ignorent la toxicité. C'est pour cela une remise en cause de l'utilisation des pesticides est urgente. Elle s'impose d'autant plus que les alternatives existent et qu'il ne manque, le plus souvent, que la volonté des citoyens et des politiques de les mettre en œuvre (Veillerette, 2002).

1. Pesticides

1.1. Définition

Le mot «pesticide», terme générique, est dérivé des termes latins «caedere» (tuer) et «pestis» (fléau), et le mot «pest» désigne tout organisme susceptible d'être nuisible à l'homme. Les pesticides ont comme caractéristique principale de lutter contre des organismes nuisibles (animaux, végétaux, champignons) mais ils peuvent aussi réguler la croissance des végétaux, avoir des propriétés défoliantes ou dessiccantes, ou encore améliorer le stockage ou le transport des produits de culture (Baldi et al., 2013).

Il existe plusieurs dénominations pour désigner un pesticide à usage agricole: produit phytosanitaire pour les firmes qui les fabriquent et les vendent, produit phytopharmaceutique pour la réglementation européenne, produit agropharmaceutique pour les scientifiques agronomes.

1.2. Composition

Un pesticide est composé de deux types de substances:

- une ou plusieurs substances actives: les substances actives sont définies par la directive 91/414/CEE du 15 juillet 1991, comme des substances ou micro-organismes, y compris les virus exerçant une action générale ou spécifique sur les organismes

nuisibles ou sur les végétaux, parties de végétaux ou produits végétaux. Ce sont ces substances qui confèrent au produit l'effet désiré.

- un ou plusieurs additifs ou adjuvants : ces co-formulants renforcent l'efficacité (épaississants, solvants, agents mouillants tels que les dérivés du nonylphénol ...) (substances appétences ...) et la sécurité du produit (répulsifs, vomitifs...). Il peut aussi y avoir des attractants (Amara, 2012).

1.3. Classification des pesticides

Les pesticides utilisés sont classés en fonction de leur cible biologique:

- Les herbicides, destinés à limiter l'installation d'espèces végétales adventices;
- Les fongicides, destinés à éliminer les champignons;
- Les insecticides, destinés à tuer les insectes ou à empêcher le déroulement normal de leur cycle de vie;
- Les molluscicides, destinés à éliminer les escargots et limaces;
- Les rodenticides, destinés à éliminer les rongeurs;
- Les acaricides, destinés à éliminer les acariens.

Compte tenu de l'usage des différentes molécules actives (destruction ou limitation de la croissance des organismes biologiques considérés comme ravageurs), celles-ci sont généralement classées selon leur mode d'action sur les systèmes biologiques. Sans être exhaustif, le Tableau 1 présente plusieurs des cibles biologiques en fonction des classes de pesticides.

Un autre système de classification tient compte de la nature chimique de la substance active majoritaire qui compose les produits phytosanitaires, on distingue:

*Les pesticides organiques

- Organochlorés
- Organophosphorés
- Carbamates
- Triazines
- Urées substituées
- Pyréthrinoides

*Les pesticides inorganiques

En général, ce sont des éléments chimiques qui ne se dégradent pas. Leur utilisation entraîne souvent de graves effets toxicologiques sur l'environnement par accumulation dans les sols. Le plomb, l'arsenic et le mercure sont fort toxiques.

*Les biopesticides

Ce sont des substances dérivées de plantes ou d'animaux, elles peuvent être constituées d'organismes tels que les:

Tableau 1. Exemples de cibles biologiques des pesticides (Casida, 2010)

Herbicides	Fongicides	Insecticides
Elongases des acides gras	Tubuline	Acétylcholinestérase
Glutamine synthétase	14 α -déméthylase	Canaux sodium
Tubuline	Biosynthèse des phospholipides	Récepteurs acétylcholine ou GABA
Acetolactate synthétase	ARN polymérase	Glutamate
Photosystème II	ATP synthétase	ATP-synthétase
		NADH déshydrogénase

- Moisissures ;
- Bactéries ;
- Virus ;
- Nématodes ;
- Composés chimiques dérivés de plantes ;
- Pheromones d'insectes (Boland et al., 2004).

1.4. Dangers de l'emploi des pesticides à usage agricole

1.4.1. Dangers liés à la santé humaine

Les pesticides, qu'ils soient naturels ou de synthèse (la majorité), sont des produits biologiquement actifs et donc intentionnellement toxiques pour les organismes cibles. Du fait de leur dangerosité intrinsèque, le contact inopiné de ces substances avec des cibles non désignées risque d'entraîner des troubles graves pour ces dernières. L'homme constitue l'une de ces cibles involontaires du fait qu'il est l'applicateur de ces substances mais aussi, par exemple, consommateur de ressources alimentaires contaminées par des résidus. Ces deux contextes d'exposition aux pesticides, professionnel et environnemental, soulignent deux risques bien différents, le premier lié à des expositions habituellement élevées, le second associé à des expositions généralement très faibles mais répétées dans le temps (Multigner, 2005).

Selon un rapport de la Banque mondiale (WB, 2008), 355000 personnes dans le monde meurent chaque année d'empoisonnement involontaire dû à des pesticides.

Les pesticides sont utilisés, non seulement dans l'agriculture, mais aussi par divers autres acteurs (industries, collectivités territoriales) ainsi qu'en usage domestique et vétérinaire. L'exposition aux pesticides se caractérise donc par une multiplicité des voies d'exposition, par contact cutané, par ingestion et par inhalation. Plusieurs modes d'exposition de l'environnement et de l'homme aux pesticides sont représentés dans la Figure 1.

1.4.1.1. Exposition professionnelle

En milieu professionnel, relativement peu d'études ont été développées pour évaluer les niveaux de contamination réels des populations lors des traitements ou après les traitements (contact avec les cultures traitées par exemple). Il s'agit pourtant d'un élément essentiel à la définition de l'exposition au cours de la vie professionnelle et à la recherche de relations dose-effet.

Des études sur les agriculteurs qui sont fréquemment en contact avec des mélanges de pesticides ont révélé des altérations de certains paramètres immunologiques et

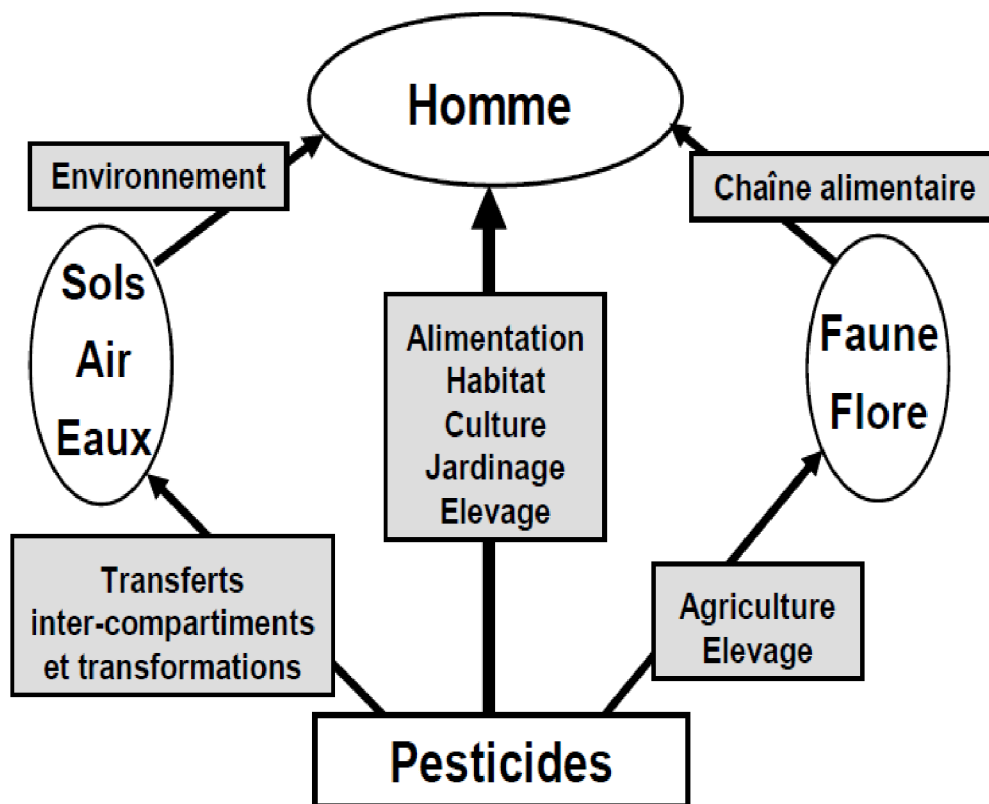


Figure 1. Mode d'exposition de l'homme et des milieux par les pesticides (CPP, 2002)

biochimiques (Aroonvilairat et al., 2015). Les valeurs de TSH, IgE, ALT, AST et MDA sont les plus élevés (Abou El-Magd et al., 2011).

1.4.1.2. Femmes enceintes ou susceptibles de l'être

Certains pesticides, des matières co-formulantes ou des adjuvants, pourraient être responsables d'effets adverses lors de l'exposition de la femme enceinte à des stades particuliers de la grossesse.

Cette phase particulière ne peut être négligée dans l'évaluation des risques liés aux pesticides. Ces situations particulières d'exposition doivent être étudiées et méritent une information spécifique des personnes concernées. En Bretagne, une étude a été effectuée pour voir le niveau d'imprégnation des femmes enceintes aux pesticides et a révélé qu'il y a présence de traces des pesticides recherchés dans la majorité des urines des femmes (10 molécules les plus fréquentes sont des métabolites d'insecticides organophosphorés) (Baldi et al., 2013).

1.4.1.3. Enfants

Les enfants sont considérés par principe comme une sous-population à risque dans la population générale. Ils peuvent présenter par leur métabolisme, leur taille et leur croissance, une sensibilité particulière aux toxiques. Ils ont également des budgets espace-temps différents des adultes, ce qui conduit à recommander, qu'outre leur sensibilité, leur exposition soit étudiée spécifiquement (CPP, 2002).

De récentes études démontrent que l'exposition prénatale aux organochlorés et pyréthrinoides peut provoquer des atteintes au niveau de la mémoire et la compréhension chez les jeunes enfants (Wang et al., 2016a), un retard de la croissance intra-utérine et une augmentation d'un stress oxydatif (Pathak et al., 2011), l'autisme (Lyll et al., 2016), et pourrait même être associée à un risque accru de tumeurs cérébrales infantiles (Chen et al., 2016).

1.4.2. Dangers liés à l'environnement

Les pesticides ont été depuis près d'une cinquantaine d'années mis en évidence dans tous les compartiments environnementaux qui n'ont subi aucun traitement. Ils ont été retrouvés dans les eaux de rivières, les nappes phréatiques, l'air, les eaux de pluie, mais aussi dans les fruits, les légumes, les céréales et les produits d'origine animale (Pimentel, 1995).

Une des conséquences environnementales majeures de l'agriculture intensive actuelle est la dégradation de la qualité des eaux (Ippolito et al., 2012).

C'est le manque de sélectivité des pesticides vis-à-vis de leur cible qui provoque la plupart des effets nocifs pour l'environnement. Les animaux absorbent les pesticides via la nourriture ou l'eau d'alimentation, via l'air respiré ou à travers leur peau ou leur cuticule. Ayant franchi diverses barrières, le toxique atteint les sites du métabolisme ou est stocké (Van der Werf, 1996). En Guadeloupe, le chlordecone, un pesticide organochloré employé pour lutter contre le charançon du bananier jusqu'à 1993, est retrouvé très fréquemment (jusqu'à 90 % des échantillons chez des hommes adultes). Bien que ce pesticide ne soit plus employé, les anciens travailleurs de la banane ayant été en contact professionnel avec le chlordecone, présentent les concentrations plasmatiques les plus élevées. La pollution persistante des sols par ce pesticide est à l'origine de la contamination de nombreuses denrées alimentaires locales, animales et végétales (Figure 2). Cela témoigne de son caractère persistant dans l'organisme (Baldi et al., 2013).

1.5. Toxicités des pesticides

1.5.1. Toxicité aiguë

L'intoxication aiguë se manifeste généralement immédiatement ou peu de temps (quelques minutes, heures ou jours) après une exposition unique ou de courte durée à un pesticide.

1.5.2. Toxicité chronique

L'intoxication chronique survient normalement suite à l'absorption répétée pendant plusieurs jours, plusieurs mois et même plusieurs années, de faibles doses de pesticides qui peuvent s'accumuler dans l'organisme. Elle peut être aussi le résultat d'intoxications aiguës répétées.

Le nombre d'empoisonnements par les pesticides est estimé à trois millions de cas tous les ans avec environ 220000 décès. 95% d'empoisonnements mortels par les pesticides se produisent dans les pays en voie de développement (Dubus et al., 2001).

Quelques notions ont été établies par l'OMS concernant les doses de pesticides:

***Dose journalière admissible:** La DJA d'un produit chimique est une estimation de la dose de substance active présente dans les aliments ou l'eau de boisson, exprimée en fonction du poids corporel, qui peut être ingérée tous les jours pendant la vie entière, sans risque appréciable pour la santé du consommateur, compte tenu de tous les facteurs connus au moment de l'évaluation. Elle est exprimée en milligrammes de produit chimique par kilogramme de poids corporel (OMS, 1997).

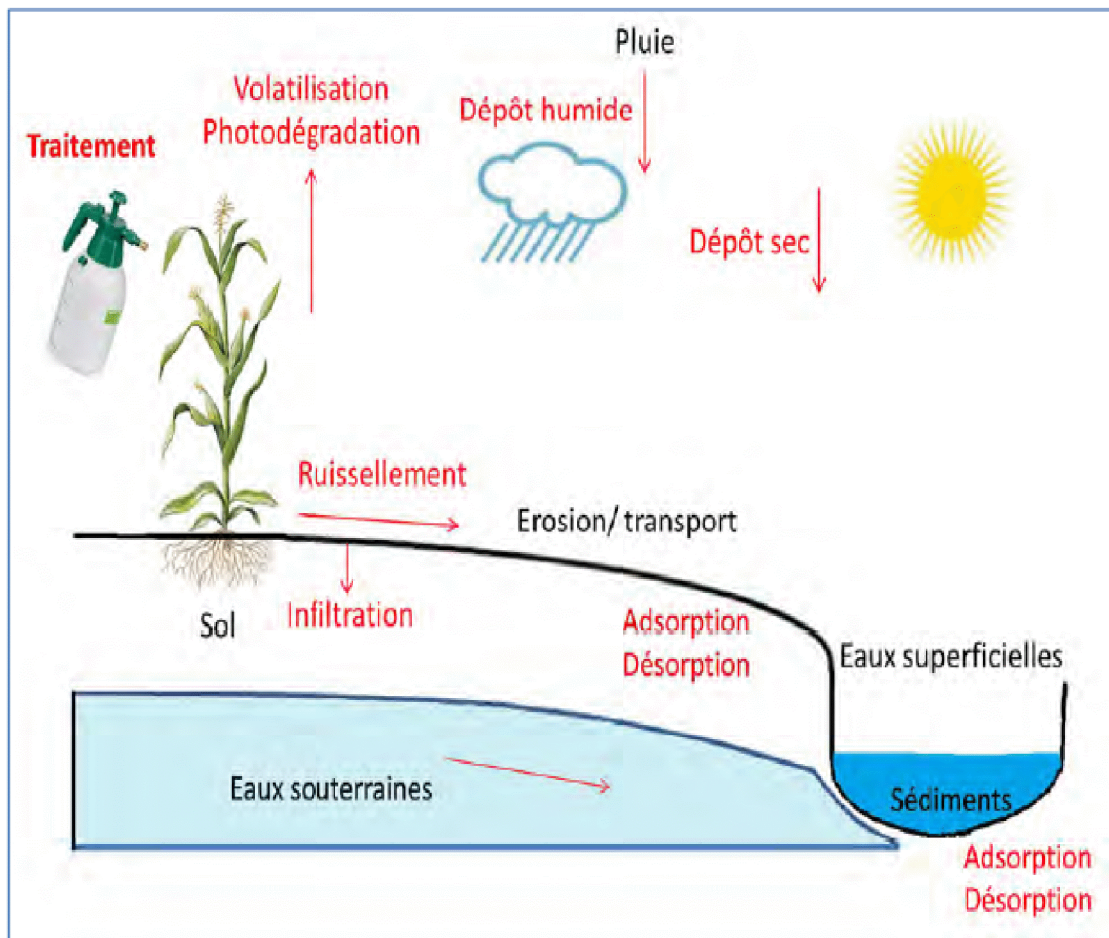


Figure 2. Transfert des pesticides dans les compartiments de l'environnement après traitement (Bonvallot, 2014)

***Dose sans effet (DSE):** correspond dans les études à long terme, à la dose la plus élevée d'un produit dont l'absorption quotidienne ne provoque aucun effet décelable chez les animaux soumis à l'expérimentation. La DSE est également exprimée en milligramme par kilogramme de poids corporel (Derache, 1986).

***Dose de référence aigue (Arfd):** établie pour les molécules présentant une toxicité à court terme qu'un individu ne doit pas dépasser au cours d'un repas ou d'une journée (Cluzeau et al., 2000).

***La limite maximale de résidus (LMR):** est fixée pour chaque substance et chaque culture, et correspond aux quantités maximales attendues, lorsque le produit phytosanitaire est utilisé selon les conditions d'emploi préconisées par la réglementation et les bonnes pratiques agricoles. C'est la concentration en résidus la plus élevée légalement acceptable pour que les denrées restent commercialisables. La LMR est généralement exprimée en mg/kg et assortie d'un délai d'emploi avant récolte (Cluzeau et al., 2000).

2. Pyrethrinoides et leurs modes d'action

2.1. Définition

Les pyréthroides (ou pyréthrinoides) synthétiques ne sont pas des insecticides très récents puisque leur premier représentant, l'alléthrine, a été développé en 1949. Les premiers composés de cette famille étaient d'origine végétale (le pyrèthre), extraits de fleurs séchées d'une espèce de chrysanthème (Pedigo, 2002), connu depuis des siècles pour leur activité insecticide. D'abord développé en 1973, les pyréthrinoides sont plus stables à la lumière que le pyrèthre naturel et possèdent une très bonne activité insecticide. Chimiquement, les pyréthrinoides sont des esters liposolubles. En conséquence, il n'existe aucun pyréthrinoides doté de propriétés systémiques (Delorme, 2002).

Les pyréthroides sont efficaces à très faibles doses par rapport aux carbamates ou organophosphorés et sont en général d'une plus grande sécurité d'utilisation pour l'homme ou les insectes auxiliaires de l'agriculture. L'amélioration progressive des premières molécules, en particulier quant à leur stabilité, a permis leur utilisation pour la protection des cultures (Pedigo, 2002).

2.2. Classification et mode d'action : Ils sont classés en deux types, selon que la molécule possède un groupe cyano (-CN) ou non, la présence de ce groupe influe sur le mécanisme d'action toxique. (Tableau 2; Figure 3).

Les pyréthrinoides de type I provoquent une hyperexcitation et des convulsions chez les insectes. L'action très brève des molécules de type I désorganise l'influx nerveux des neurones sensitifs et moteurs et même des inter-neurones du système nerveux central.

Les composés de type II sont plutôt responsables d'ataxie. Le blocage prolongé (plusieurs minutes) des canaux sodiques par les pyréthrinoides de type II entraîne une perte d'excitabilité du neurone.

Dans les deux cas les effets apparaissent très rapidement (une à deux minutes), c'est l'effet «knockdown». Ce sont des neurotoxiques qui agissent en retardant ou empêchant la fermeture des canaux sodiques membranaires le long de l'axone, ils perturbent ainsi la transmission de l'influx nerveux au niveau des neurones centraux ou périphériques (Soderlund, 2012). La perturbation du message électrique le long de l'axone est responsable de la libération anormale de neurotransmetteurs au niveau synaptique et donc des effets observés, en particulier sur les mouvements de l'insecte (Bloomquist, 1996).

Le mécanisme d'action des pyréthrinoides chez les vertébrés est similaire à celui des insectes, principalement au niveau du système nerveux. Deux syndromes d'intoxication aiguë distincts sont décrits chez les mammifères, en particulier les rats. Le "syndrome T", qui est essentiellement induit par les pyréthrinoides naturels et les pyréthrinoides de type I, est caractérisé par des tremblements, une sensibilité extrême aux stimuli sensoriels, une ataxie, des convulsions et, dans certains cas, la paralysie. Le "CS-syndrome», principalement induit par les pyréthrinoides de type II, est caractérisée par une hypersensibilité aux stimuli externes, une choréo-athétose, une salivation et dans certains cas, la paralysie (Narahashi, 2000).

L'alpha-cyperméthrine est utilisée pour contrôler une large gamme d'insectes (en particulier les Lépidoptères, Coléoptères et Hémiptères) dans les fruits (y compris les agrumes), les légumes, la vigne, les céréales, le maïs, la betterave, le colza, les pommes de terre, le coton, le riz, le soja, la sylviculture et d'autres cultures. En santé publique, elle est utilisée pour contrôler les cafards, les moustiques, les mouches et d'autres insectes nuisibles. Elle est également utilisée dans la santé animale comme ecto-parasiticide (OMS, 2009).

3. Effets métaboliques des pesticides

L'utilisation des pesticides peut avoir plusieurs contraintes pour la santé de l'homme et l'animal. Différentes complications et troubles métaboliques en résultent et ceux durant toute la vie de l'être vivant (allant des atteintes intra-utérin jusqu'à l'âge adulte).

Tableau 2 . Pyréthrine et Pyréthrinoides (Todd et al., 2003)

Pyréthrine	Pyréthrinoides de type I	Pyréthrinoides de type II
Constituants d'extrait de pyrèthre naturel	les dérivés de pyréthrine qui ne comprennent pas un groupe cyano et peuvent susciter des tremblements	les dérivés de pyréthrine qui comprennent un groupe cyano et peuvent susciter une choreo-athétose et la salivation.
Pyréthrine I PyréthrineII Cinetrin I Cinetrin II Jasmolin I Jasmolin II	Allethrine Bifenthrine Permethrine Phenothrine Rasmethrine Tefluthrine Tetramethrine	Cyfluthrine Cyhalothrine Cypermethrine Deltamethrine Fenvalerate Fenpropathrine Flucythrinate Flumethrine Fluvalinate

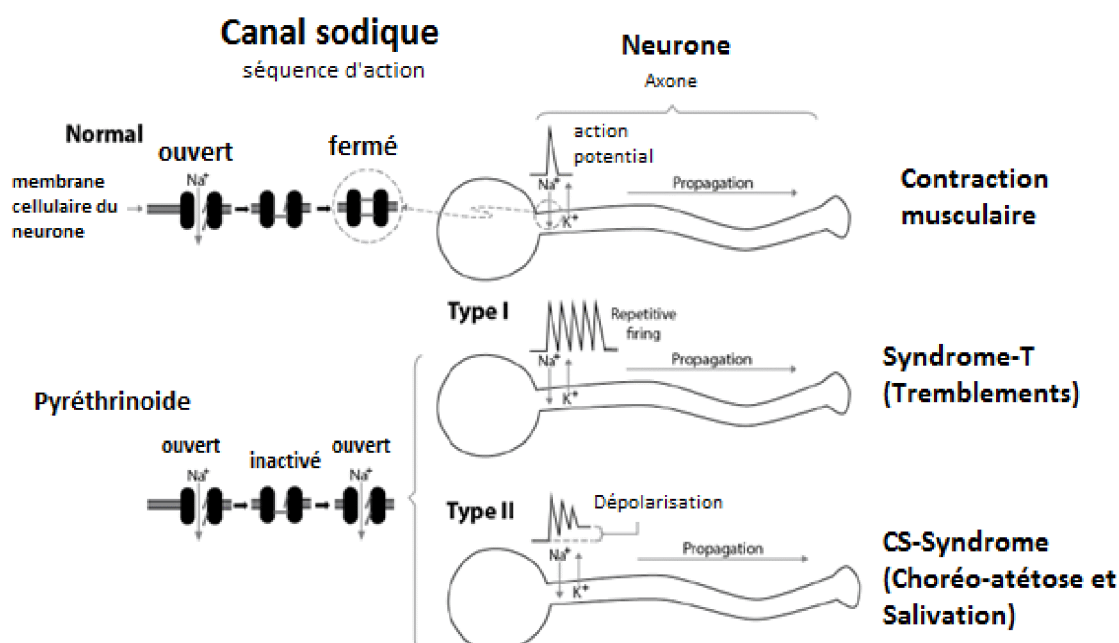


Figure 3. Mode d'action des Pyréthrinoides sur les neurones (Hénault-Ethier, 2016)

3.1. Effets métaboliques des pesticides au cours de la grossesse

L'exposition aux agents chimiques pendant des périodes précoces de la vie peut avoir des effets délétères à long terme (Zhang et al., 2012).

Les pesticides peuvent avoir des conséquences sur l'homme et la femme en phase de conception et leurs effets apparaissent plus tard chez leur descendance.

Des preuves scientifiques ont montré les effets néfastes des produits chimiques environnementaux toxiques pour la reproduction humaine, en particulier pendant les périodes critiques et sensibles du développement tels que la grossesse. Ils peuvent avoir plusieurs

répercussions sur la santé qui peut se manifester à travers toute la vie de l'individu et éventuellement être transmis aux générations futures (Zota et al., 2013).

L'exposition aux produits chimiques durant la grossesse peut traverser le placenta et atteindre le fœtus (Mitro et al., 2015), et en conséquence les prochaines générations sont nées « pré-polluées » (National Cancer Institute, 2010).

Les organochlorés sont capables de traverser le placenta et sont détectés dans le sérum du cordon, le méconium, le placenta et le liquide amniotique. Leur concentration est plus élevée chez la mère par rapport au cordon ombilical (Mitro et al., 2015).

En Bretagne, l'objectif d'une étude est de mesurer le niveau d'imprégnation des femmes enceintes aux pesticides, les pesticides recherchés sont à usage agricole ou non. Les résultats indiquent la présence de traces de ces pesticides dans la majorité des urines des femmes enceintes (les molécules les plus fréquentes sont des métabolites d'insecticides organochlorés) (Baldi et al., 2013).

Une étude expérimentale sur des rats wistar gestante a montré la présence de concentrations détectables de cyperméthrine dans le liquide amniotique (Bossi et al., 2013). Mais, également son métabolite a été trouvé à des concentrations élevées dans l'urine maternelle. Le fait que la cyperméthrine a été trouvée dans le liquide amniotique est en quelque sorte surprenant, en raison de son caractère lipophile, le produit doit être retenu dans le tissu adipeux, comme observé chez des rats exposés (Crawford et al., 1981b). Une explication possible est que le composé peut être libéré dans la circulation sanguine maternelle et pénétré dans l'environnement du fœtus (Miller et al., 2012). Les pyréthrinoides ont été détectés à de très faibles concentrations dans le sérum du cordon et du sérum maternel chez les femmes enceintes et les nouveau-nés, ce qui suggère que certains pyréthrinoides non métabolisés peuvent également atteindre le compartiment fœtal (Yan et al., 2009).

Parmi les effets néfastes des pesticides au cours de la gestation, les plus couramment notés sont les avortements spontanés, les malformations congénitales, et la diminution du poids de naissance ou de la durée de gestation.

L'exposition prénatale aux pesticides est une préoccupation du grand public, parce que le cerveau du fœtus se développe rapidement dans l'utérus au cours de cette période de développement critique, ce qui peut avoir des effets durables sur le développement neurologique (Silver et al., 2016). De plus, la plupart des pesticides utilisés sont prouvés ou présumés toxiques pour le développement fœtal.

Le cerveau du nourrisson et du fœtus se développent rapidement, ce qui les rend vulnérables aux effets à long terme des pesticides (Garcia et al., 2005), puisqu'ils sont capables de traverser le placenta (Bradman et al., 2003), et que les enzymes de détoxification chez le fœtus sont très faibles (Eskenazi et al., 2008). Ces deux points augmentent la sensibilité du fœtus aux pesticides.

L'affectation de la progéniture par les pesticides ou leurs métabolites peut être induite par plusieurs voies, soit par passage à travers le placenta, à travers le cordon ombilical ou encore par le biais du lait maternel au cours de l'allaitement.

Mansour et Mossa (2010) ont déduit que le chlorpyrifos (CPF) est distribué dans les tissus de la progéniture au cours de l'allaitement, causant des dommages oxydatifs et un dysfonctionnement hépatique et rénal chez les rats mâles et femelles. Il a été rapporté que le lait de rat contient 11-15% de matière grasse, ce qui permet de transporter les produits toxiques lipophiles par formation de petits globules lipidiques (Dorman et al., 2001). Par conséquent, le lait a une capacité d'accumuler ces substances toxiques lipophiles. Dans des études précédentes, il a été rapporté que le lait maternel contenait 200 fois plus de pesticides que le sang maternel (Mattsson et al., 2000).

L'exposition à la deltaméthrine affecte le système reproducteur des souris mâles et ceci par l'altération de la densité totale des spermatozoïdes, leur motilité et leur morphologie (Ben Slima et al., 2016).

Les études transversales s'adressant aux pyréthrinoides, réalisées exclusivement en population consultant pour infécondité, tendent à montrer des associations avec des atteintes spermatiques. D'autres études toxicologiques réalisées chez les rongeurs soutiennent la toxicité testiculaire du fenvalerate (Baldi et al., 2013).

3.2. Pesticides et stress oxydatif

Les xénobiotiques constituent une source importante des espèces oxygénées activées (EOA), qui sont produits dans l'organisme au cours des processus métaboliques normaux impliquant l'oxygène. Les EOA sont libérées au cours d'un certain nombre

de réactions métaboliques comme la respiration cellulaire, les processus de biosynthèse, de la biodégradation et la biotransformation des xénobiotiques et lors de la phagocytose. Il existe environ 60 réactions enzymatiques qui utilisent l'oxygène comme substrat et en résultent la formation des EOA (Ojha et al., 2011).

Cependant, leurs concentrations peuvent augmenter de manière significative par l'exposition à différentes toxines environnementales produite à partir de l'industrie, l'agriculture et la pollution. Dans les circonstances normales, les EOA sont neutralisées par les antioxydants endogènes et il existe un équilibre entre les EOA et les antioxydants présents. La superoxide dismutase SOD et la catalase CAT sont connus pour jouer un rôle important dans la neutralisation des EOA. La SOD catalyse la destruction du radical superoxyde en H_2O_2 , tandis que la CAT réduit le H_2O_2 en eau et oxygène pour maintenir l'homéostasie cellulaire. En outre, la glutathion-s-transférase GST joue un rôle essentiel dans le processus de désintoxication. Lorsque cet équilibre est rompu à cause d'un épuisement des antioxydants et/ou une surcharge en EOA, une altération de la physiologie cellulaire est à l'origine de différents états pathologiques. C'est ce qu'on appelle un état de stress oxydatif. Les EOA sont des espèces transitoires, en raison de leur forte activité chimique qui entraîne une oxydation accrue des lipides et une production des peroxydes lipidiques, une oxydation des protéines et leurs dégradations, et peuvent dans les cas extrêmes atteindre l'ADN et provoquer des dommages irréversibles.

Un certain nombre d'études ont démontré des effets génotoxiques et cancérigènes de la deltaméthrine chez les mammifères et les non mammifères (Ismail et Mohamed, 2012). Pour de nombreux pesticides, l'induction d'un stress oxydant est l'un des principaux mécanismes de leur action. L'exposition chronique à la deltaméthrine a causé des atteintes neurologiques (Hossain et Richardson, 2011). Le mécanisme de ces faits pathologiques peut être provoqué par la libération de radicaux libres et l'induction de la peroxydation lipidique. Aussi, Abdel-Daim et al. (2013) démontrent que les atteintes hépatorénales causées par l'exposition à la deltaméthrine peuvent être attribuées aux stress oxydatif provoqué par la génération des EOA. Beaucoup d'études ont démontré que la perméthrine est un perturbateur endocrinien qui, à forte dose, induit un stress oxydant, des dommages de l'ADN ainsi qu'une génotoxicité au niveau de la moelle osseuse et une perturbation du système immunitaire (Baldi et al., 2013).

L'administration de la cyperméthrine à 80 mg / kg a été déterminée pour avoir causé des dommages oxydatifs d'intensité variable dans différents tissus et organes (Kanbur et al., 2016). Les changements dans le foie et les reins ont été attribués aux effets néfastes des EOA générées au cours de la biotransformation et l'élimination des

pesticides (Kanbur et al., 2016). Aussi, l'activité de SOD et GST et le taux de GSH hépatique chez des souris exposées aux cyperméthrine (1/10 DL₅₀) diminuent significativement, ce qui explique l'effet oxydatif de ce pesticide induisant l'épuisement ou le dépassement du système enzymatique antioxydant (Mossa et al., 2015).

Les résultats obtenus lors d'une étude sur les poissons, révèlent que la cyperméthrine peut les affecter en induisant un stress oxydatif au cours de l'ontogenèse (Dawar et al., 2016). Jeziarska et al. (2009) ont suggéré que les pyréthrinoides pénètrent la membrane de l'œuf du poisson et perturbent le processus de développement en modifiant les mécanismes biochimiques et moléculaires et provoquant finalement la mort de l'embryon.

Le métabolisme des pyréthrinoides se produit à l'aide du cytochrome et les produits métaboliques sont éliminés du corps, principalement dans les urines (Morgan, 2012). Un niveau élevé de radicaux libres est générée au cours du métabolisme de la cyperméthrine (Tiwari et al., 2010), et ces composés hautement actifs conduisent au développement d'un stress oxydatif (Mignini et al., 2013).

L'exposition prénatale aux pesticides peut être à l'origine d'une programmation d'un stress oxydatif chez la descendance. En effet, dans l'étude de Raslan et El-Said (2011), les auteurs ont détecté une augmentation significative de l'oxyde nitrique (NO), et des peroxydes lipidiques, associée à une diminution significative du GSH et SOD dans différentes régions du cerveau de la progéniture.

Des auteurs estiment que Lambda-cyhalothrine (LCT) (un pesticide de la famille des pyrethrinoides) est dangereux pour le bon déroulement de la grossesse (en termes de qualité de la grossesse, du nombre d'implants utérins, de l'indice d'implantation et de la mort fœtale) (Ratnasooriya et al., 2003).

Une exposition prolongée à de faibles doses de LCT aboutit au développement d'un stress oxydatif chez des rates gestantes et leurs progénitures, avec une diminution des taux d'enzymes antioxydants et une élévation de la peroxydation lipidique. Ce stress oxydatif est très accentué chez la progéniture au cours de l'allaitement et tant à diminuer avec le sevrage des ratons (Tukhtaev et al., 2012).

Toutes ces informations précédentes mettent en évidence que le stress oxydatif est l'un des modes d'action importants des pesticides dans l'organisme.

3.3. Pesticides et accumulation

Les principales interrogations concernent aujourd'hui les effets à long terme des expositions aux pesticides sur la santé, y compris à de faibles doses d'exposition. Des maladies susceptibles d'être liées à des expositions répétées et chroniques font l'objet

de plusieurs études et devront attirer l'attention des chercheurs et scientifiques, surtout avec le problème de l'accumulation de ces produits chimiques dans les tissus de l'organisme.

Le régime alimentaire est une principale voie d'exposition aux pyréthrinoides chez les personnes non exposées professionnellement, en particulier des aliments contenant des résidus de pyréthrinoides exemples les légumes et fruits (Todd et al., 2003).

En France, une étude est réalisée sur l'imprégnation de la population française à certaines substances actives appartenant à trois familles d'insecticides : les organochlorés, les organophosphorés et les pyréthrinoides. Les mesures de concentrations sériques et urinaires (molécules mères et métabolites) indiquent que les organochlorés tels que les isomères du lindane, le DDT et le DDE, sont présents à l'état de traces chez la quasi-totalité des sujets de l'étude. Le lindane est détecté chez 7 % des individus. Les dialkylphosphates, métabolites communs à de nombreux insecticides organophosphorés, sont présents dans plus de 90 % des échantillons urinaires. Les métabolites des pyréthrinoides (5 métabolites mesurés) sont trouvés dans plus de 80 % des échantillons (Baldi et al., 2013). Comme l'utilisation de la plupart des molécules d'organochlorés a pratiquement disparu en France et en Europe dans les usages agricoles et domestiques, l'imprégnation de la population générale est essentiellement d'origine alimentaire via la consommation de poissons, viandes, lait et produits laitiers par suite de la bioaccumulation de ces molécules dans les graisses animales, la chaîne alimentaire (Bradman et al., 2007).

Des études chez le rat ont montré que la cyperméthrine est rapidement métabolisée et éliminée plus de 99% en quelques heures, mais l'accumulation de cyperméthrine et de ses conjugués d'acides gras dans le tissu adipeux, le cerveau et le foie a été signalée (Marei et al., 1982).

Chez des rats ayant reçu une dose unique orale de cyperméthrine ou alpha-cyperméthrine à (2mg/kg), les concentrations tissulaires les plus élevées ont été trouvées dans les tissus graisseux, suivie par la peau, l'élimination des différents tissus est rapide, mais concernant le tissu adipeux la demie-vie d'élimination de la cyperméthrine et de l'alpha-cyperméthrine a été prolongé (10-40jours). D'autres études à doses répétées chez le rat ont confirmé que la cyperméthrine s'accumule au niveau de la graisse, avec une accumulation moins importante au niveau du plasma, le foie et les reins (Mueller et al., 2006).

Plusieurs organochlorés (dont le chlordane et le DDT, dichloro-diphényl-trichloroethane) ne sont plus utilisés depuis longtemps dans de nombreux pays mais leurs métabolites comme l'oxychlordane ou le DDE, persistent dans l'environnement et s'accumulent dans la chaîne alimentaire. A titre d'exemple, le DDE s'accumule

fortement dans le tissu adipeux (coefficient de partition tissu adipeux/sang de 400/1) (Muhlebach et al., 1991). Il en résulte que certaines concentrations seraient supérieures à 10 μM chez l'Homme dans certaines cellules notamment adipocytaires (supérieures, en comparaison, aux concentrations sanguines) (Mullerova et Kopecky, 2007).

Les résultats d'une récente étude ont montré qu'il y avait des taux importants de pesticides (prétilachlor, DDT, lindane, chlorpyrifos, diazinon, malathion, bioalléthrine, α cyprmethrine et β cyfluthrine) dans les échantillons de méconium des nouveau-nés de mère exposées aux pesticides dans le domaine agricole ou non (EL-Baz et al., 2015). Le Méconium et les cheveux peuvent indiquer l'exposition cumulative, tandis que le liquide amniotique est un indicateur de l'exposition fœtale aiguë aux xénobiotiques (Kavvalakis et Tsatsakis, 2012).

MATERIEL ET METHODES

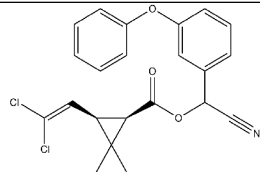
1. Protocole expérimental

L'étude est réalisée sur des rats femelles de type « Wistar » élevés à l'animalerie au niveau du département de Biologie, Faculté des sciences de la Nature et de Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université ABOU BEKR BELKAID de Tlemcen. L'élevage est effectué dans une pièce éclairée 12h par jour, et dont la température est maintenue constante (22 à 25°C). Les animaux ont un accès libre à la nourriture et l'eau.

1.1. Choix du pesticide

Une enquête préliminaire sur les insecticides les plus vendus et les plus demandés par les agriculteurs est réalisée auprès des vendeurs de pesticides et de produits agricoles dans la région de Tlemcen. Cette enquête montre que les insecticides les plus utilisés sont de la famille des pyréthrinoides. Afin d'imiter l'exposition humaine, nous avons choisi de tester un insecticide de la famille des pyréthrinoides, l'alpha-cyperméthrine, à faible dose chez des rates gestantes obèses ou non. Nous avons utilisé la dose journalière admissible (DJA), qui est de 0,02 mg/kg/jour (Codex alimentarius, 2003). Dans ces conditions expérimentales, nous évitons les doses toxiques et létales qui induisent la mort des rats. Les rats recevant l'insecticide à la dose DJA sont maintenus en vie, ce qui permet de les suivre à long terme. La structure et le poids moléculaire de l'alpha-cyperméthrine sont mentionnés dans le Tableau 3.

Tableau 3. Propriétés physicochimiques de l'insecticide utilisé

Propriétés physicochimiques	
Fonction	Insecticide
Formule brute	C ₂₂ H ₁₉ Cl ₂ NO ₃
Nom chimique	[cyano-(3-phenoxyphenyl)methyl](1R,3R)-3-(2,2-dichloroethenyl)-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate
Famille chimique	Pyréthroïde
Structure chimique	
Masse moléculaire	416,297 g/mol
Matière active	Alpha-cyperméthrine
Solubilité	0,01mg/l

1.2. Préparation de l'insecticide et des régimes

L'insecticide, l'alpha-cyperméthrine, est solubilisé dans 1ml d'huile de tournesol et est incorporé par la suite au régime alimentaire des rats (le régime standard ou le régime cafeteria), selon le poids corporel du rat en respectant la DJA (0,02mg/kg/jour).

Le régime cafeteria est utilisé pour induire l'obésité chez le rat. Ce régime cafeteria est composé de 50% de régime standard et de 50% de mélange : saucisse- biscuits secs – fromage- chips- chocolat- cacahuètes dans les proportions 2 :2 :2 :1 :1 :1 selon le protocole de Darimont et al. (2004). Il s'agit d'un régime hypercalorique et hyperlipidique, provoquant une hyperphagie suivie d'une hypertrophie du tissu adipeux d'où l'installation de l'obésité chez le rat. La composition du régime cafeteria ainsi que celle du régime standard sont données dans le Tableau 4.

Les rats femelles sont soumis aux différents régimes pendant un mois avant l'accouplement. Ensuite, le régime est maintenu au cours de la gestation. Quatre lots de rats femelles sont alors constitués:

- Un lot témoin consommant le régime standard commercial (TS);
- Un lot témoin insecticide consommant le régime standard commercial supplémenté par l'insecticide à la dose DJA (TI);
- Un lot obèse consommant le régime cafeteria (CS);
- Un lot obèse insecticide, consommant le régime cafeteria supplémenté par l'insecticide à la même dose DJA (CI).

Chaque matin, chaque rat femelle reçoit 15 g de régime standard ou cafeteria sans insecticide ou expérimental avec insecticide. Après contrôle de la consommation de la totalité d'aliment, les rates reçoivent 25 g de régime standard ou cafeteria sans pesticide jusqu'au lendemain matin. Cette opération permet d'éviter les pertes d'aliment et de contrôler la quantité de pesticides consommés par les rats. Le poids corporel et la quantité de nourriture consommée sont notés quotidiennement.

Après un mois de régime, les rates des quatre lots sont accouplées avec des rats Wistar mâles. Le 1^{er} jour de gestation est déterminé par la présence de spermatozoïdes sur le frottis vaginal des femelles. Les rates gestantes sont placées dans des cages individuelles, continuent de recevoir le même régime que celui consommé avant la gestation et sont suivies jusqu'à la mise-bas. A la mise-bas, les nouveau-nés sont pesés.

2. Sacrifices et prélèvements de sang et d'organes

A la mise-bas, les rates sont anesthésiées au sodium pentobarbital (60 mg/kg de poids corporel) et sont sacrifiées après 12h de jeûne. Le sang est prélevé par ponction dans

Tableau 4. Composition des régimes consommés par les rats

Composition (% pondéraux)	Régime	
	Cafeteria	Standard commercial
Protéines totales	20	20
Glucides totaux	30	55
Lipides totaux	30	6
Fibres	8	6
Humidité	8	8
Minéraux	3	4
Vitamines	1	1
Acides gras (%)		
AGS	42	27
AGMI	30	24
C18:2 n-6	27	45
C18:3 n-3	1	3
C20:4 n-6	0	1

La composition des régimes est réalisée au laboratoire de Produits naturels, Faculté SNVTU, Université de Tlemcen. La composition en acides gras des régimes est déterminée par HPLC (Laboratoire UPRES lipides, Faculté Gabriel, Dijon, France). AGS : acides gras saturés; AGMI : acides gras mono-insaturés; C18:2 n-6 : acide linoléique; C18:3 n-3 : acide alpha-linolénique; C20:4 n-6 : acide arachidonique.

l'aorte abdominale. Une quantité de sang prélevé est récupérée dans des tubes à EDTA et l'autre partie est recueillie dans des tubes secs.

Les échantillons prélevés sur tubes EDTA sont centrifugés à 3000 tr/min pendant 15 minutes. Le plasma est prélevé pour le dosage des paramètres du stress oxydatif. Le culot contenant les érythrocytes est lavé plusieurs fois avec de l'eau physiologique, puis les cellules sont lysés par addition de l'eau distillée glacée et incubation pendant 15 minutes dans la glace. Les débris cellulaires sont éliminés par centrifugation à 5000 tr/min pendant 5 minutes. Le lysat est par la suite récupéré afin de doser les paramètres du stress oxydatif intracellulaire.

Après coagulation du sang prélevé sur tubes secs, et centrifugation à 3000 tr/min pendant 15 minutes, le sérum est récupéré et conservé à -20°C en vue du dosage des différents paramètres biochimiques. Les dosages du glucose et de la vitamine C se font sur du sang frais le jour même du sacrifice.

Après le prélèvement sanguin, le tissu adipeux viscéral, le foie, le muscle, le cerveau et les reins sont soigneusement prélevés, rincés avec du NaCl à 9‰, ensuite pesés. Les homogénats tissulaires sont préparés par broyage des organes dans le tampon PBS (pH=7,4) et passage aux ultrasons.

3. Description des méthodes utilisées

3.1. Dosage du cholestérol total

Le dosage du cholestérol total est réalisé par la méthode enzymatique (kit BioAssay Systems, Hayward, CA, USA), sur le sérum, ainsi que sur l'homogénat d'organes. La réaction consiste à libérer le cholestérol de la liaison ester par la cholestérol-estérase, et d'oxyder le cholestérol libre non estérifié par la cholestérol-oxydase. L'indicateur est une quinonéimine formée à partir du peroxyde d'hydrogène et de la 4-aminophénazone, sous l'action catalytique de la peroxydase. La concentration en quinonéimine colorée est mesurée à 505 nm. Elle est proportionnelle à la concentration en cholestérol total présent dans l'échantillon.

3.2. Dosage des triglycérides

Les triglycérides sont dosés par méthode enzymatique (kits BioAssay Systems, Hayward, CA, USA) sur le sérum, ainsi que sur l'homogénat d'organes. Les triglycérides sont dosés après hydrolyse enzymatique par des lipases en glycérol et acides gras libres. L'indicateur est une quinonéimine formée à partir de peroxyde d'hydrogène, de la 4- aminoantipyrine et du 4-chlorophénol sous l'action catalytique de la peroxydase. Le taux des triglycérides est déterminé à une longueur d'onde de

505 nm. La concentration en quinonéimine est proportionnelle à la concentration totale en triglycérides présents dans l'échantillon.

3.3. Dosage du glucose

Le glucose sérique est déterminé par la méthode enzymatique colorimétrique (kits BioAssay Systems, Hayward, CA, USA). En présence du glucose oxydase, le glucose est oxydé en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier en présence de la peroxydase et du phénol, oxyde un chromogène (4-aminoantipyrine) incolore en un colorant rouge à structure quinoneimine. L'absorption est mesurée à 505 nm et l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en glucose.

3.4. Dosage des protéines totales

Les protéines totales sériques sont dosées par la méthode colorimétrique de Biuret (Kit CHRONOLAB). Les protéines forment avec les ions cuivriques, en milieu alcalin, un complexe coloré dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en protéines. L'absorption est mesurée à 540 nm.

3.5. Dosage de l'urée

L'urée sérique est dosée par méthode colorimétrique et enzymatique (Kit CHRONOLAB). La réaction consiste en une réaction enzymatique couplée à une réaction colorée.

L'enzyme uréase hydrolyse l'urée en produisant de l'ammonium (NH_4^+) et des ions carbonates (CO_3^{2-}). Les ions ammonium réagissent en milieu alcalin avec du salicylate et de l'hypochlorite pour former un indophénol coloré en bleu. La coloration est catalysée par le nitroprussiate, et la lecture se fait à 600 nm.

3.6. Dosage de l'acide urique

L'acide urique sérique est dosé par méthode colorimétrique et enzymatique (Kit CHRONOLAB). L'enzyme uricase oxyde l'acide urique en allantoiné et peroxyde d'hydrogène, qui sous l'influence de la peroxydase, 4-aminophénazone (4-AP) et 2-4 dichlorophénol sulfonate (DCPS) forme un composé de quinoneimine rouge. La lecture se fait à 520nm.

3.7. Dosage de la créatinine

Le dosage de la créatinine sérique se fait par méthode colorimétrique selon le kit CHRONOLAB. En milieu alcalin, la créatinine forme avec le picrate un complexe coloré en jaune orange. La vitesse de développement de la coloration est mesurée à une longueur d'onde égale à 500 nm.

3.8. Dosage des protéines tissulaires

Le dosage des protéines tissulaires est déterminé sur les homogénats d'organes selon la méthode de Lowry et al. (1951) qui combine une réaction au biuret et une réaction au réactif de Folin-Ciocalteu. En milieu alcalin, le complexe formé par les ions Cu^{2+} et les groupements tyrosine et tryptophane des protéines est réduit par le réactif de Folin. La coloration bleue développée est proportionnelle à la quantité de protéines de l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde de 689 nm. La concentration en protéines des échantillons est calculée à partir d'une gamme étalon réalisée avec une solution mère d'albumine bovine sérique (BSA, Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA).

3.9. Détermination du statut oxydant /antioxydant

3.9.1. Dosage de la vitamine C

La vitamine C est dosée selon la méthode de Jacota et Dani (1982) sur le plasma en utilisant le réactif de Folin et une gamme d'acide ascorbique. Après utilisation de l'acide trichloroacétique TCA à 10% pour précipiter les protéines et centrifugation, le Folin est ajouté au surnageant. La vitamine C réduit le réactif en donnant une coloration jaune. L'intensité de la coloration à une longueur d'onde de 769 nm représente la concentration en vitamine C présente dans l'échantillon. La concentration de la vitamine C est déduite à l'aide d'une courbe étalon d'une solution d'acide ascorbique.

3.9.2. Détermination de l'activité enzymatique antioxydante catalase (CAT ; EC 1.11.1.6)

L'activité de la catalase est mesurée au niveau du lysat érythrocytaire par analyse spectrophotométrique du taux de la décomposition du peroxyde d'hydrogène selon la méthode d'Aebi (1974). En présence de la catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de la solution de H_2O_2 en fonction du temps. Le milieu réactionnel contient la source enzymatique (lysate érythrocytaire), le H_2O_2 , et le tampon phosphate (50 mmol/l, pH 7,0). Après incubation de 5 minutes, le réactif Titanium oxyde sulfate (TiOSO_4) est ajouté. La

lecture se fait à 420 nm. Les concentrations du H₂O₂ restant sont déterminées à partir d'une gamme étalon de H₂O₂ à des concentrations de 0,5 à 2 mmol/l.

Le calcul d'une unité d'activité enzymatique est :

$$A = \log A_1 - \log A_2.$$

A1 est la concentration de H₂O₂ de départ

A2 est la concentration de H₂O₂ après incubation (au bout de 5 minutes)

L'activité spécifique est exprimée en U/min/ml de lysat érythrocytaire ou U/g Hb.

3.9.3. Dosage de l'activité de la Superoxyde dismutase (SOD; EC 1.15.1.1)

L'activité de cette enzyme est mesurée selon la méthode d'Elstner et al. (1983). Le principe est basé sur la réaction chimique qui génère l'ion superoxyde (O²⁻) à partir de l'oxygène moléculaire en présence d'EDTA, de MnCl₂ et du mercaptoéthanol.

L'oxydation du NADPH est liée à la disponibilité des ions superoxyde dans le milieu. Dès que la SOD est ajoutée dans le milieu réactionnel, elle entraîne l'inhibition de l'oxydation du NADPH. Le milieu réactionnel contient le lysat érythrocytaire, le tampon phosphate et le réactif hydroxylamine chloride - antraquinone - diaphorase. Le mélange est ensuite incubé avec le NADPH pendant 15 minutes à température ambiante. Par la suite, le réactif sulfanilamide - HCl - naphthylethylène diamine est ajouté. La lecture se fait à 540 nm, après incubation de 20 minutes. La gamme d'activité est réalisée avec la SOD étalon.

3.9.4. Dosage de glutathion réduit

Le dosage du glutathion réduit (GSH) est réalisé dans le lysat érythrocytaire et les homogénats d'organes par la méthode colorimétrique utilisant le réactif d'Ellman (DTNB) (Ellman, 1959). La réaction consiste à couper la molécule d'acide 5,5dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB).

L'acide thionitrobenzoïque (TNB) à pH (8-9) présente une absorbance à 412 nm avec un coefficient d'extinction égal à 13,6 mM⁻¹.cm⁻¹.

3.9.5. Détermination des protéines carbonylées

Les protéines carbonylées du plasma, du lysat érythrocytaire ou d'homogénats d'organes (marqueurs de l'oxydation protéique) sont mesurées par la réaction au 2,4-dinitrophénylhydrazine selon la méthode de Levine et al. (1990). La réaction aboutit à la formation de la dinitrophényl hydrazone colorée.

Les concentrations des groupements carbonylés sont déterminées par lectures à 350 et 375 nm et calculées selon un coefficient d'extinction ($\epsilon = 21,5 \text{ (mmol/l. cm}^{-1}\text{)}$).

3.9.6. Détermination du malondialdéhyde

Le malondialdéhyde (MDA) est un marqueur représentatif de la peroxydation lipidique. Le MDA plasmatique, érythrocytaire ou tissulaire est mesuré selon la méthode de Draper et Hadley (1990). Après traitement par l'acide à chaud, les aldéhydes réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un produit de condensation chromogénique consistant en 2 molécules de TBA et une molécule de MDA. L'absorption intense de ce chromogène se fait à une longueur d'onde de 532 nm. La concentration du MDA est calculée en utilisant le coefficient d'extinction du complexe MDA-TBA ($\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$ à 532 nm).

4. Détermination des activités enzymatiques

4.1. Détermination de l'activité de la lipoprotéine lipase (LPL; EC 3 .1.1.34)

L'activité lipase est déterminée à partir du niveau d'hydrolyse des triglycérides d'un substrat

synthétique en mesurant la quantité d'acides gras libérés par titrimétrie selon la technique PH -STAT (Taylor, 1985; Tietz et al., 1989). Une émulsion d'huile d'olive (20 mL) et de gomme arabique (16,5 g) solubilisées dans H₂O (165 mL) est préparée par sonication (3 fois 45 minutes). Le substrat synthétique contient 2,4 mL d'émulsion, 300 µl d'une solution de sérum albumine bovine (à 4% dans du tampon tris/HCl) et 300 µl de sérum humain chauffé à 56°C (source d'apoprotéine C2, activateur de la LPL). 100 uL de substrat synthétique sont incubés avec 100 uL d'homogénat d'organes (source enzymatique) dans 3 mL de tampon NaCl 100 mmol/L, CaCl₂ 5 mmol/L ; PH 8, à température ambiante et sous agitation pendant 5 minutes. Après incubation, le PH du milieu (devenu acide suite à la libération des AGL) est ramené à sa valeur initiale par addition de NaOH 0,05 mol/L. Le volume de NaOH versé est alors noté et correspond après conversion au nombre d'acides gras libérés. Une unité lipase est la quantité d'enzyme qui permet la libération d'une micromole d'acide gras en une minute.

4.2. Détermination de l'activité de la lipase hormono-sensible (LHS ; EC 3.1.1.3)

L'activité lipolytique est mesurée quantitativement selon la méthode décrite par Kabbaj et al.

(2003). Cette activité est dosée avec l'ester *p*-nitrophényle-butyrates (PNPB), hydrolysé en présence de la lipase en *p*-nitrophénol et l'acide butyrique. La libération du *p*-nitrophénol se traduit par l'apparition d'une coloration jaune détectée à 400 nm. Les homogénats de tissu adipeux sont incubés avec le PNPB dans le tampon (0,1 M

NaH₂PO₄, pH 7,25, 0,9% NaCl, 1 mM dithiothreitol) à 37°C pendant 10 minutes. La réaction est stoppée par addition d'un mélange méthanol / chloroforme / heptane (10/9/7). Après centrifugation à 800 g pendant 20 minutes, les solutions sont incubées pendant 3 minutes à 42°C. L'absorbance lue à 400 nm permet de calculer la concentration en utilisant un coefficient d'extinction molaire de $12,75 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ pour le *p*-nitrophénol. Une unité enzymatique est la quantité d'enzyme capable de libérer une μmole de *p*-nitrophénol par minute et par mg de protéines.

La lipase hormonosensible (LHS) est l'enzyme du tissu adipeux qui hydrolyse les triglycérides de réserve (lipolyse périphérique), et libère dans le sang des acides gras libres. La libération adipocytaire de glycérol et d'acides gras est principalement dépendante de la LHS (LARGE et al., 2004).

4.3. Détermination de l'activité de l'enzyme glycérol 3 phosphate déshydrogénase (GPDH; EC 1.1.1.8)

L'activité de la GPDH est mesurée par une méthode spectrophotométrique (Wise & Green, 1979). Le principe de ce dosage est basé sur la transformation de la dihydroxyacetone phosphate en glycérol 3 phosphate par la GPDH. Pour une mole de substrat transformée, une mole de NADH est oxydée. Le milieu réactionnel contient le tampon Tris/HCl (100 mM, pH 7,5), EDTA (2,5 mM), NADH (0,12 mM), 0,2 mM dihydroxyacetone phosphate et 0,1 mM mercaptoethanol. La réaction est déclenchée par l'ajout de la source enzymatique (homogénat de tissu adipeux). La variation d'absorbance à 340 nm dû à la disparition du NADH dans le milieu est suivie pendant 2 minutes. Cette disparition se traduit par une diminution de la densité optique (DO). Les blancs sont réalisés en remplaçant le substrat dihydroxyacetone phosphate par l'eau déminéralisée. La cinétique de disparition du NADH permet de déterminer l'activité enzymatique de la GPDH. L'activité de la GPDH est exprimée en nmol NADH oxydé/min/mg de protéines, utilisant le coefficient d'extinction du NADH à 340 nm ($\epsilon = 6,22 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

4.4. Détermination de l'activité de l'enzyme acide gras synthétase (FAS; EC 2.3.1.85)

L'activité enzymatique FAS est déterminée en suivant l'oxydation malonyl CoA-dépendante du NADPH à 37°C, ce qui correspond au suivi au spectrophotomètre de la disparition du NADPH à une longueur d'onde de 340 nm, selon la méthode d'Agheli et al. (1998). Le milieu réactionnel contient l'homogénat du tissu adipeux (source de l'enzyme FAS), du NADPH (0,1mM) et acetyl-CoA (25 nM) dans 100 mM tampon potassium phosphate, pH 6,5. La réaction est initiée par addition de

malonyl-CoA (10 mM). L'activité FAS est déterminée en suivant les modifications de l'absorbance à 340 nm. Une unité de l'activité enzymatique FAS représente 1 μ mol de NADPH oxydé par minute à 37°C.

4.5. Détermination de l'activité de l'enzyme acyl coA déhydrogénase (EC 1.3.99.3)

L'activité de l'acyl coA dehydrogenase est mesurée en utilisant le phenazine methosulfate et le 2,6 dichloroindophenol (DCIP) comme accepteurs d'électrons intermédiaire et final, avec le palmitoyl-coA comme substrat selon la méthode de Hall et al. (1978). Le milieu réactionnel contient le 2,6 dichloroindophenol (2 mM), le tampon potassium phosphate (0,05 M, PH 7,5), le phenazine methosulfate (10 mM) et l'homogénat du tissu adipeux. La réaction est déclenchée par addition du palmitoyl-CoA (500 μ M). La réaction de réduction du DCIP est suivie pendant 10 minutes et l'absorbance est mesurée à 600 nm. L'activité enzymatique est exprimée en nanomoles de DCIP réduit par minute par g de tissu ou par mg de protéines, en utilisant le coefficient d'extinction du DCIP à 600 nm ($21 \text{ mmol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

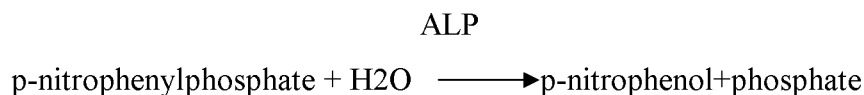
4.6. Détermination de l'activité enzymatique des transaminases (TGO ou AST, TGP ou ALT)

Les transaminases permettent le transfert du groupement aminé d'un acide aminé sur un acide α cétonique. L'acide aminé est alors transformé en acide cétonique correspondant et l'acide α cétonique en acide aminé. Les deux principales réactions de transamination sont catalysées par les transaminases glutamo-oxaloacétique (TGO) et glutamo-pyruvique (TGP).

La détermination des activités enzymatiques des transaminases au niveau sanguin permet d'apprécier l'atteinte tissulaire et la cytolysse, notamment au niveau hépatique. La méthode utilisée pour déterminer ces activités enzymatiques repose sur la réaction enzyme-substrat couplée au NADH/H⁺, selon le kit (Randox Laboratories Ltd, Co Antrim, UK). L'enzyme transaminase catalyse le transfert du groupe amine de l'aspartate (pour la TGO) ou de l'alanine (pour la TGP) vers l'oxaloglutarate avec formation de glutamate et d'oxaloacétate (pour la TGO) ou du pyruvate (pour la TGP). Les mesures sont effectuées à l'aide de réactions couplées pour permettre l'utilisation du coenzyme NADH/H⁺ dont on mesure la diminution d'absorbance. Ainsi, l'oxaloacétate est réduit en malate ou le pyruvate en lactate grâce à des déshydrogénases (MDH ou LDH) couplées à NADH/H⁺. La vitesse d'oxydation du NADH est proportionnelle à l'activité enzymatique des transaminases. Elle est déterminée par la diminution de l'absorbance à 340 nm.

4.7. Détermination de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline (ALP)

L'activité de la phosphatase alcaline est déterminée par la méthode enzymatique colorimétrique (kit Randox Laboratories Ltd, Co Antrim, UK). L'ALP catalyse l'hydrolyse du p-nitrophenyl phosphate à pH 10,4 qui aboutit à la libération du p-nitrophenol et du phosphate selon la réaction suivante :



Le taux de p-nitrophenol formé est suivi à 405 nm et est proportionnel à l'activité de la phosphatase alcaline présente dans l'échantillon.

5. Analyse statistique

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type. Les résultats sont en premier temps testés pour la distribution normale en utilisant le test de Shapiro–Wilk. Les données qui ne sont pas distribués normalement sont transformées de façon logarithmique. Les données sont analysées en utilisant une analyse de variance (ANOVA) pour déterminer les différences entre les différents lots, avec un niveau de signification de $p < 0,05$. Lorsque des changements significatifs sont observés dans les tests ANOVA, le test multiple de Tukey est appliqué pour localiser la source des différences significatives. Un test « t » de Student est utilisé pour analyser la signification des changements entre deux groupes, pour confirmer les résultats obtenus par le test Tukey.

Ces calculs sont effectués par le Logiciel STATISTICA version 4.1 (StatSoft).

RESULTATS ET INTERPRETATIONS

1. Poids corporel des rates et leurs nouveau-nés, gain pondéral, consommation alimentaire et apport énergétique (Tableau 5)

A la fin de l'expérimentation, soit à la mise-bas, le poids corporel (g) et le gain pondéral (g) des rates sont significativement différents dans les 4 lots étudiés (ANOVA, $P = 0,001$). Les rates obèses nourries au régime cafeteria ont un poids corporel et un gain pondéral significativement plus importants en comparaison avec les lots témoins. La supplémentation par l'insecticide alpha-cyperméthrine, à la dose DJA de 0,02mg/kg/jour, provoque une augmentation significative du poids corporel et du gain pondéral aussi bien chez les rates témoins (TI versus TS) que chez les rates obèses (CI versus CS); les valeurs les plus importantes sont obtenues chez les rates CI.

La nourriture ingérée (g/j/rat) est significativement plus élevée chez les rates obèses (CS, CI) que celle des témoins (TS, TI), marquant ainsi l'effet hyperphagique du régime cafeteria. De ce fait, l'apport énergétique est plus élevé chez les rates nourries par le régime cafeteria. Le traitement par l'insecticide n'affecte pas la quantité de nourriture ingérée ni l'apport énergétique, aussi bien chez les témoins (TI versus TS) que chez les obèses (CI versus CS).

Le poids des nouveau-nés de rates obèses nourries au régime cafeteria est significativement supérieur au poids de la progéniture des rates témoins. La supplémentation par l'insecticide alpha-cyperméthrine n'affecte pas le poids des nouveau-nés des deux lots.

2. Poids des organes chez les rates (Tableau 6)

Les poids du foie et du tissu adipeux sont significativement plus élevés chez les rates obèses comparées aux rates témoins. Le traitement par l'insecticide alpha-cyperméthrine n'affecte pas le poids du foie aussi bien chez les rates témoins que chez les rates obèses. Cependant, ce traitement par l'insecticide induit une augmentation significative du poids du tissu adipeux dans les deux lots. Les poids du muscle, du cerveau, des reins, du poumon, de la rate et du cœur sont similaires entre les quatre groupes de rats, et ne sont affectés ni par le régime ni par le traitement par l'insecticide.

3. Paramètres biochimiques chez les rates

3.1. Teneurs sériques en glucose, protéines totales, urée, acide urique et créatinine chez les rates (Figure 4 et Tableau A1 en annexe)

Les teneurs sériques en glucose sont significativement différentes pour tous les lots de rates. Une élévation significative du taux sérique de glucose est notée chez les rates

Tableau 5. Poids corporel des rates et leurs nouveau-nés, gain pondéral, consommation alimentaire et apport énergétique

	TS	TI	CS	CI	<i>P</i> (ANOVA)
Poids corporel (g)	297,87±17,27 ^d	361,87±22,07 ^c	394,37±21,96 ^b	451,75±19,00 ^a	0,001
Gain pondéral (g)	100,02±12,55 ^d	160±11,56 ^c	198,14±15 ^b	250,74±17,25 ^a	0,003
Consommation alimentaire (g/J)	30,45±3,72 ^b	31,22±2,53 ^b	50,58±2,24 ^a	49,57±3,21 ^a	0,020
Apport énergétique (Kcal/J)	107,80±10,11 ^b	110,52±12 ^b	237,73±15,33 ^a	232,98±18,04 ^a	0,004
Poids nouveau-né (g)	5,55±0,46 ^b	5,64±,32 ^b	7,66±0,47 ^a	7,45±0,38 ^a	0,030

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, à partir de 8 rates par lot. TS: lot témoin consommant le régime standard; TI: lot témoin insecticide consommant le régime standard supplémenté par l'insecticide alpha-cyperméthrine à la dose DJA de 0,02mg/kg/jour; CS: lot obèse consommant le régime cafeteria; CI: lot obèse insecticide, consommant le régime cafeteria supplémenté par l'insecticide à la même dose DJA.

Après vérification de la distribution normale des variables (test Shapiro – Wilk), la comparaison des moyennes entre les différents groupes de rates est effectuée par le test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétée par le test Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux.

Les différences significatives entre les différents lots sont marquées par des lettres différentes (a,b,c,d).

Tableau 6. Poids des organes chez les mères

	TS	TI	CS	CI	<i>P</i> (ANOVA)
Foie (g)	8,52±0,87 ^b	10,64±1,03 ^b	15,74±1,19 ^a	16,44±1,02 ^a	0,030
Tissu adipeux (g)	2,65±0,30 ^d	3,88±0,43 ^c	4,53±0,27 ^b	5,76±0,37 ^a	0,008
Muscle (g)	2,04±0,20 ^a	2,29±0,36 ^a	2,35±0,19 ^a	2,40±0,22 ^a	0,161
Cerveau (g)	2,22±0,15 ^a	2,39±0,22 ^a	2,35±0,34 ^a	2,52±0,36 ^a	0,132
Reins (g)	2,46±0,19 ^a	2,69±0,27 ^a	2,60±0,13 ^a	2,64±0,11 ^a	0,158
Poumon (g)	2,19±0,06 ^a	2,22±0,09 ^a	2,24±0,05 ^a	2,20±0,04 ^a	0,125
Rate (g)	1,72±0,11 ^a	1,98±0,33 ^a	1,93±0,27 ^a	1,98±0,31 ^a	0,210
Cœur (g)	1,73±0,11 ^a	1,78±0,10 ^a	1,85±0,08 ^a	1,78±0,08 ^a	0,143

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, à partir de 8 rates par lot. TS: lot témoin consommant le régime standard; TI: lot témoin insecticide consommant le régime standard supplémenté par l'insecticide alpha-cyperméthrine à la dose DJA de 0,02mg/kg/jour; CS: lot obèse consommant le régime cafeteria; CI: lot obèse insecticide, consommant le régime cafeteria supplémenté par l'insecticide à la même dose DJA.

Après vérification de la distribution normale des variables (test Shapiro – Wilk), la comparaison des moyennes entre les différents groupes de rates est effectuée par le test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétée par le test Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux.

Les différences significatives entre les différents lots sont marquées par des lettres différentes (a,b,c,d).

obèses par rapport aux témoins, qu'elles soient traitées ou non à l'insecticide (CS versus TS ou CI versus

TI). Aussi, les rats expérimentaux (TI ou CI) traités par l'alpha-cyperméthrine présentent une augmentation significative du taux sérique en glucose par rapport à leurs témoins respectifs (TS ou CS).

Concernant les teneurs sériques en protéines totales, aucune différence n'est observée entre les différents lots (ANOVA, $P=0,153$), quelque soit le régime ou le traitement.

Les rates obèses CS montrent des teneurs sériques en urée et en créatinine similaires à celles des témoins TI. Par contre, les teneurs sériques en acide urique sont plus élevées chez les rates CS comparées aux TS. Le traitement par l'insecticide provoque une augmentation significative de l'urée, l'acide urique et la créatinine sériques chez les lots de rats expérimentaux en comparaison avec leurs témoins qu'ils soient obèse ou non (TI versus TS ou CI versus CS). Les valeurs les plus élevées sont observées chez les rates CI.

3.2. Teneurs sériques en lipides chez les rates (Figure 5 et Tableau A1 en annexe)

On note une augmentation hautement significative des teneurs sériques en cholestérol et en triglycérides chez les rates obèses comparées aux témoins (CS versus TS ou CI versus TI). La supplémentation par l'insecticide induit une augmentation significative des teneurs sériques en lipides aussi bien chez les rates témoins TI que chez les obèses CI par rapport à leurs homologues respectifs non traités TS et CS.

4. Teneurs en protéines et en lipides des organes (Foie, tissu adipeux, muscle, cerveau et rein) chez les rates (Tableau 7)

Les contenus en triglycérides du foie, du tissu adipeux, du muscle, du cerveau et des reins sont significativement plus élevés chez les rates obèses comparées aux témoins. Le traitement par l'insecticide induit à une accumulation plus importante des triglycérides au niveau de tous les organes, à l'exception du tissu adipeux où une réduction du contenu en triglycérides est notée suite à la supplémentation par l'insecticide, chez les obèses et les témoins (CI vs CS ou TI vs TS).

Les teneurs en cholestérol tissulaire du foie et du muscle sont plus élevées chez les obèses (CS, CI) comparés aux témoins (TS, TI). Cependant, les contenus en cholestérol du tissu adipeux, du cerveau et des reins ne varient pas significativement entre les rates obèses et leurs témoins. Le traitement par l'insecticide entraîne une élévation du cholestérol tissulaire en niveau du muscle, cerveau et rein, mais pas au niveau du foie et du tissu adipeux.

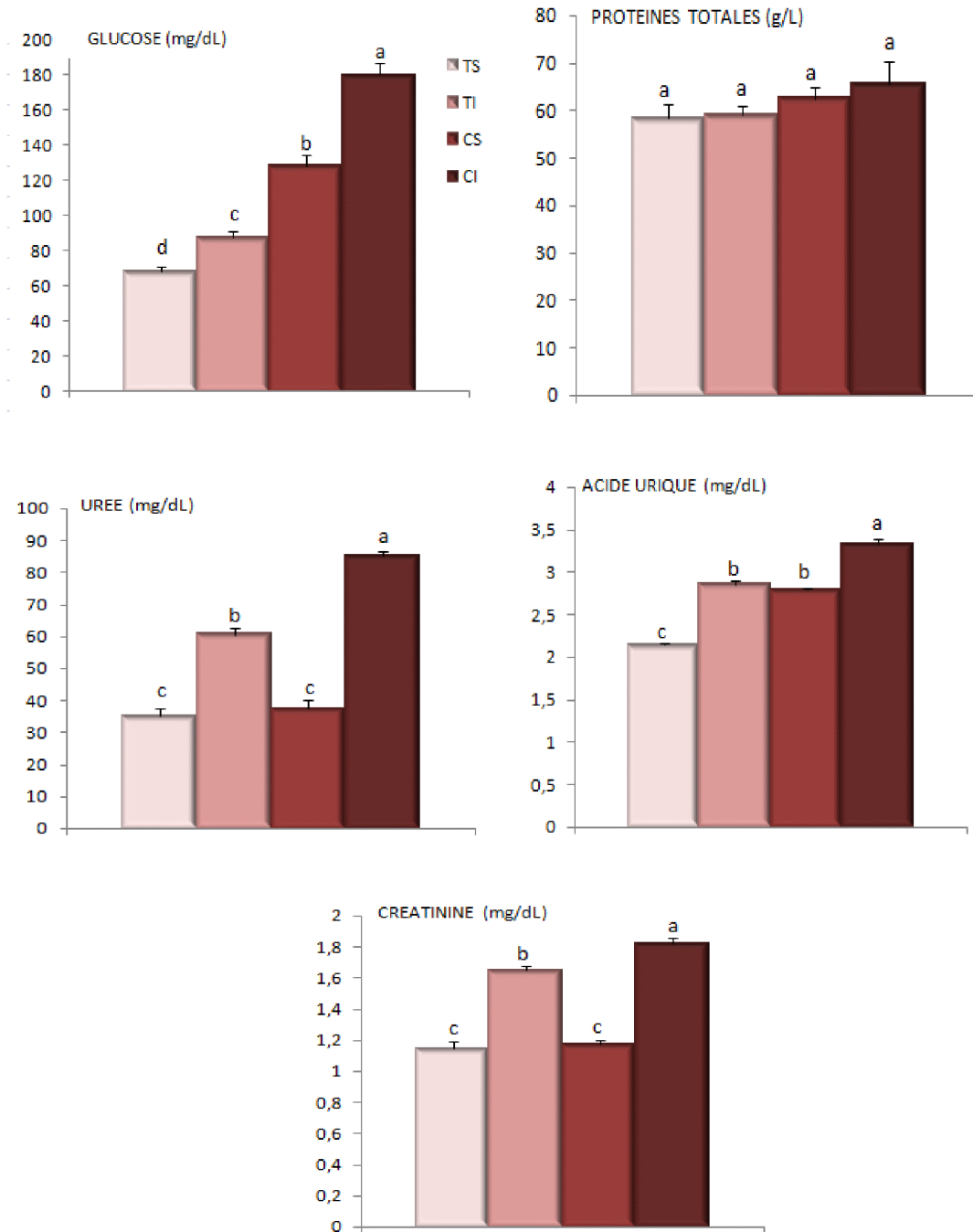


Figure 4. Teneurs sériques en glucose, protéines totales, urée, acide urique et créatinine chez les rates

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type, à partir de 8 rates par lot. TS: lot témoin consommant le régime standard; TI: lot témoin insecticide consommant le régime standard supplémenté par l'insecticide alpha-cyperméthrine à la dose DJA de 0,02mg/kg/jour; CS: lot obèse consommant le régime cafeteria; CI: lot obèse insecticide, consommant le régime cafeteria supplémenté par l'insecticide à la même dose DJA.

Après vérification de la distribution normale des variables (test Shapiro – Wilk), la comparaison des moyennes entre les différents groupes de rates est effectuée par le test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétée par le test Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux.

Les différences significatives entre les différents lots sont marquées par des lettres différentes (a,b,c,d).

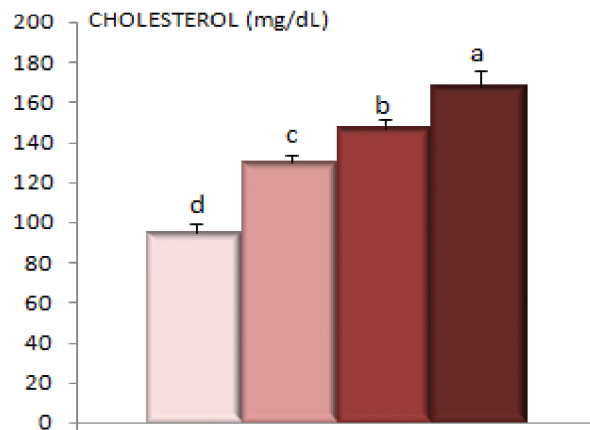
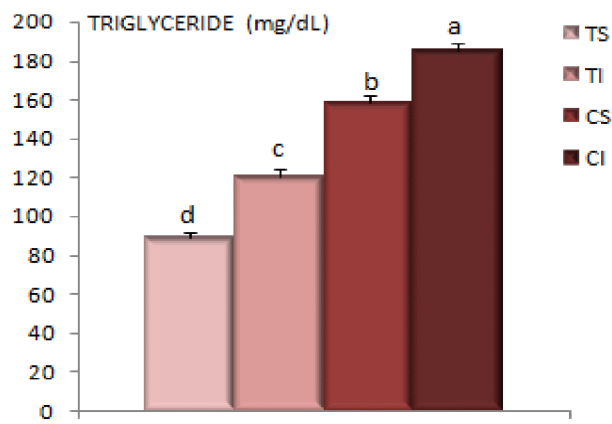


Figure 5. Teneurs sériques en lipides chez les rates

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type, à partir de 8 rates par lot. TS: lot témoin consommant le régime standard; TI: lot témoin insecticide consommant le régime standard supplémenté par l'insecticide alpha-cyperméthrine à la dose DJA de 0,02mg/kg/jour; CS: lot obèse consommant le régime cafeteria; CI: lot obèse insecticide, consommant le régime cafeteria supplémenté par l'insecticide à la même dose DJA.

Après vérification de la distribution normale des variables (test Shapiro – Wilk), la comparaison des moyennes entre les différents groupes de rates est effectuée par le test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétée par le test Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux.

Les différences significatives entre les différents lots sont marquées par des lettres différentes (a,b,c,d).

Tableau 7. Teneurs en protéines et en lipides (mg/g) des organes (Foie, tissu adipeux, muscle, cerveau et reins) chez les rates

	TS	TI	CS	CI	P (ANOVA)
Triglycéride (mg/g)					
Foie	54,50±3,50 ^d	91,44±2,54 ^c	142,44±4,37 ^b	164,96±3,68 ^a	0,001
Tissu adipeux	85,02±5,48 ^c	58,25±1,69 ^d	202,70±5,53 ^a	169,84±5,76 ^b	0,001
Muscle	30,36±1,86 ^d	81,91±2,96 ^b	62,53±3,11 ^c	111,48±7,24 ^a	0,001
Cerveau	20,24±2,77 ^d	54,62±4,04 ^a	35,79±4,34 ^b	58,29±2,15 ^a	0,004
Reins	37,79±1,99 ^d	61,43±3,51 ^b	54,67±3,33 ^c	77,95±2,93 ^a	0,001
Cholestérol (mg/g)					
Foie	28,22±4,88 ^b	25,48±2,80 ^b	43,59±3,73 ^a	38,57±4,88 ^a	0,030
Tissu adipeux	20,12±4,9 ^a	21,55±4,56 ^a	22,44±3,48 ^a	25,25±2,09 ^a	0,169
Muscle	15,97±2,63 ^d	26,85±2,17 ^c	29,72±1,66 ^b	38,02±1,70 ^a	0,006
Cerveau	18,93±2,72 ^b	24,97±1,49 ^a	20,05±1,23 ^b	26,14±2,87 ^a	0,010
Reins	14,62±3,83 ^b	31,99±2,59 ^a	16,85±2,19 ^b	33,26±1,07 ^a	0,008
Protéines totales (mg/g)					
Foie	142,52±4,04 ^b	137±8,06 ^b	235±8,07 ^a	227,84±9,62 ^a	0,008
Tissu adipeux	58±5,88 ^b	34,55±2,01 ^c	74,32±3,12 ^a	55±4,02 ^b	0,030
Muscle	47,12±2,04 ^b	43,12±2,33 ^b	66,10±2,15 ^a	62,12±4,11 ^a	0,008
Cerveau	60,15±2,05 ^a	64,08±4,04 ^a	60,13±3,03 ^a	63,11±3,23 ^a	0,114
Reins	45±2,07 ^a	20,27±1,03 ^b	48,25±3,11 ^a	19,25±1,12 ^b	0,005

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, à partir de 8 rates par lot. TS: lot témoin consommant le régime standard; TI: lot témoin insecticide consommant le régime standard supplémenté par l'insecticide alpha-cyperméthrine à la dose DJA de 0,02mg/kg/jour; CS: lot obèse consommant le régime cafeteria; CI: lot obèse insecticide, consommant le régime cafeteria supplémenté par l'insecticide à la même dose DJA.

Après vérification de la distribution normale des variables (test Shapiro – Wilk), la comparaison des moyennes entre les différents groupes de rates est effectuée par le test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétée par le test Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux.

Les différences significatives entre les différents lots sont marquées par des lettres différentes (a,b,c,d).

Les contenus en protéines totales du foie, du muscle et du tissu adipeux sont significativement augmentés chez les rates obèses comparées aux rates témoins qu'elles soient traitées ou non avec l'alpha-cyperméthrine. D'autre part, ce contenu en protéines tissulaires diminue significativement au niveau du tissu adipeux et des reins chez les rats expérimentaux (TI, CI) comparés à leurs homologues non traités par l'insecticide (TS, CS).

5. Statut oxydant/antioxydant chez les rates

5.1. Marqueurs plasmatiques et érythrocytaires du statut antioxydant chez les rates (Figure 6 et Tableau A2 en annexe)

Les teneurs en vitamine C plasmatique ne présentent aucun changement entre les différents lots, et ne sont affectées ni par le régime ni par le traitement par l'insecticide. L'activité érythrocytaire de la catalase est diminuée significativement chez les rates obèses comparées à leurs témoins (CS vs TS ou CI vs TI). Le traitement par l'insecticide provoque une réduction significative de l'activité catalase chez les témoins (TI vs TS) et aussi chez les obèses (CI vs CS). Les valeurs les plus basses sont retrouvées chez les rates CI.

L'activité de l'enzyme superoxyde dismutase (SOD) est réduite significativement chez les rates CS et CI comparées à leurs témoins respectifs TS et TI. Les rates nourries par le régime contenant l'alpha-cyperméthrine, qu'il soit standard ou cafeteria (TI ou CI), présentent une diminution remarquable de l'activité SOD en comparaison aux rates ne recevant pas l'insecticide (TS, CS). D'autre part, l'association obésité et traitement insecticide accentue la diminution de l'activité SOD, les valeurs les plus basses sont retrouvées chez les rates CI.

Les teneurs érythrocytaires en glutathion réduit (GSH) sont significativement basses chez les rates obèses CS comparées aux rates TS. Le traitement par l'insecticide induit une chute significative du taux de GSH aussi bien chez les rates témoins (TI vs TS) que chez les rates obèses (CI vs CS).

5.2. Marqueurs plasmatiques et érythrocytaires du statut oxydant chez les rates (Figure 7 et Tableau A3 en annexe)

Les teneurs érythrocytaires et plasmatiques en malondialdéhyde (MDA) sont significativement augmentées chez les rates obèses comparées à leurs témoins (CS vs TS ou CI vs TI). Cette augmentation est accentuée chez les rates qui ont subi le traitement par l'insecticide (TI vs TS ou CI vs CS).

Les teneurs plasmatiques en protéines carbonylées sont similaires entre les quatre lots de rates étudiés. Par contre, les teneurs érythrocytaires en protéines carbonylées sont

significativement plus élevées chez les rates obèses comparées aux témoins (CS vs TS ou CI vs TI). L'alpha-cyperméthrine entraîne une élévation significative du taux érythrocytaire en protéines carbonylées chez les rates témoins (TI vs TS), et chez les rates obèses (CI vs CS).

5.3. Balance redox du foie et du tissu adipeux chez les rates (Figure 8 et Tableau A4 en annexe)

Les teneurs en MDA du foie et du tissu adipeux sont significativement augmentées chez les rates obèses comparées aux rates témoins (CS vs TS ou CI vs TI). Le traitement par l'insecticide provoque une augmentation significative et plus accentuée du contenu en MDA hépatique et adipocytaire aussi bien chez les témoins que chez les obèses (TI vs TS ou CI vs CS). Les valeurs les plus fortes sont notées chez les rates CI.

Les mêmes variations sont notées pour les teneurs hépatiques et adipocytaires en protéines carbonylées. En effet, l'obésité et le traitement par l'insecticide provoquent une augmentation significative des teneurs tissulaires en protéines carbonylées. La combinaison obésité – insecticide majore l'élévation des taux de protéines carbonylées dans le foie et le tissu adipeux.

Au niveau du foie, le taux en GSH est diminué significativement chez les rates obèses CS comparées aux rates TS, et chez les rates traitées par l'alpha-cyperméthrine TI ou CI comparées aux rates sans traitement TS ou CS. D'autre part, aucun changement significatif des taux en GSH n'est noté au niveau du tissu adipeux.

5.4. Balance redox du muscle, du cerveau et des reins chez les rates (Tableau 8)

Les teneurs en MDA du muscle, du cerveau et des reins sont significativement augmentées chez les rates obèses comparées aux rates témoins (CS vs TS ou CI vs TI). Le traitement par l'insecticide provoque une augmentation significative du contenu en MDA de ces organes aussi bien chez les témoins que chez les obèses (TI vs TS ou CI vs CS). Les valeurs les plus fortes sont notées chez les rates CI.

Les teneurs en protéines carbonylées du muscle et des reins sont significativement plus augmentées chez les rates par l'obésité (CS vs TS ou CI vs TI) et par le traitement insecticide (TI vs TS ou CI vs CS). Au niveau du cerveau, l'obésité n'affecte pas les teneurs en protéines carbonylées, alors que l'insecticide induit une élévation significative de ces valeurs (TI vs TS ou CI vs CS).

Les teneurs en GSH du muscle ne sont pas affectées par l'obésité, alors que les valeurs sont diminuées significativement chez les lots traités par l'insecticide (TI vs TS ou CI vs CS).

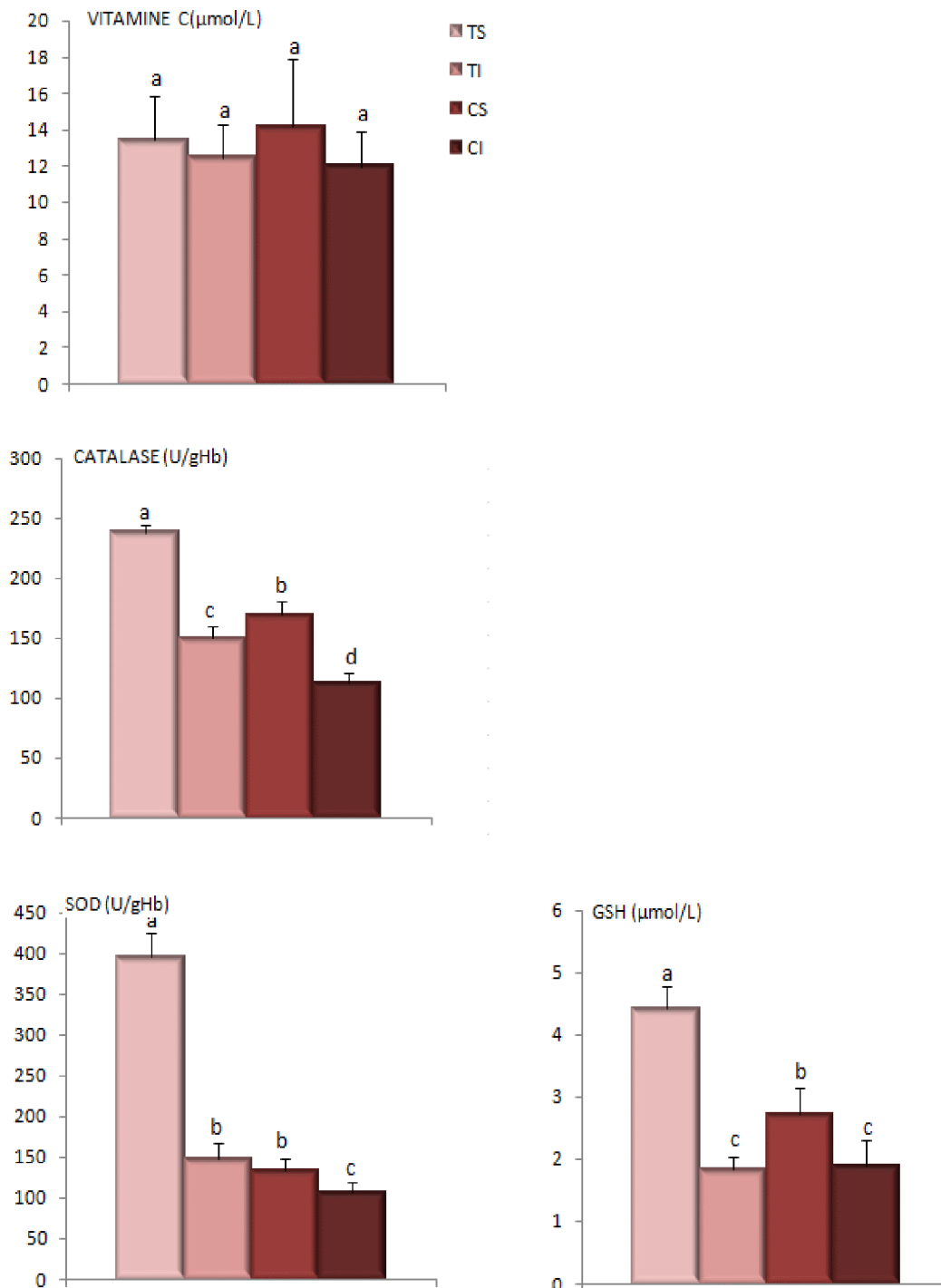


Figure 6. Marqueurs plasmatiques et érythrocytaires du statut antioxydant chez les rates

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type, à partir de 8 rates par lot. GSH : glutathion réduit ; SOD : superoxyde dismutase; TS: lot témoin consommant le régime standard; TI: lot témoin insecticide consommant le régime standard supplémenté par l'insecticide alpha-cyperméthrine à la dose DJA de 0,02mg/kg/jour; CS: lot obèse consommant le régime cafeteria; CI: lot obèse insecticide, consommant le régime cafeteria supplémenté par l'insecticide à la même dose DJA.

Après vérification de la distribution normale des variables (test Shapiro – Wilk), la comparaison des moyennes entre les différents groupes de rates est effectuée par le test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétée par le test Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux.

Les différences significatives entre les différents lots sont marquées par des lettres différentes (a,b,c,d)

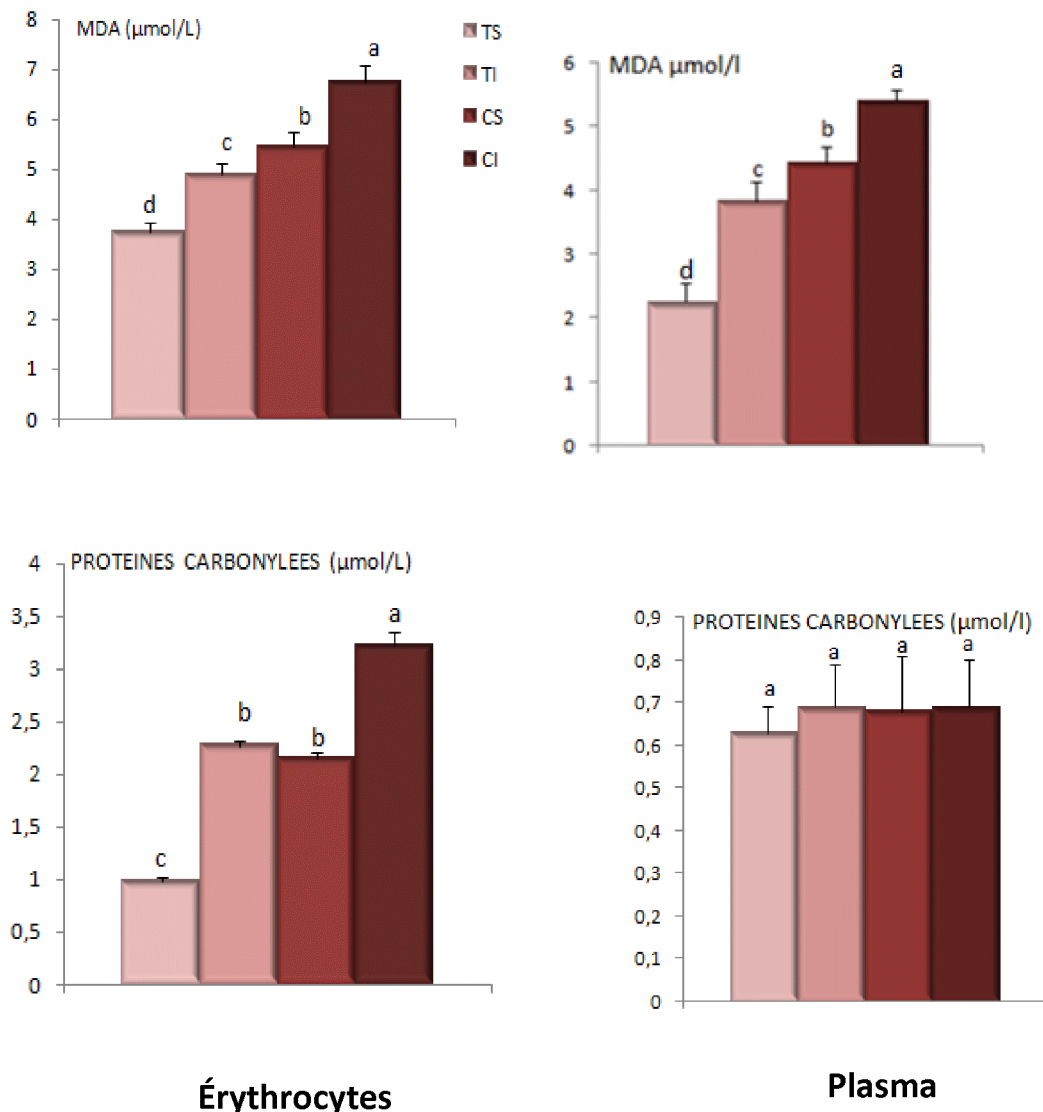


Figure 7. Marqueurs plasmatiques et érythrocytaires du statut oxydant chez les rates

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type, à partir de 8 rates par lot. MDA : malondialdéhyde; TS: lot témoin consommant le régime standard; TI: lot témoin insecticide consommant le régime standard supplémenté par l'insecticide alpha-cyperméthrine à la dose DJA de 0,02mg/kg/jour; CS: lot obèse consommant le régime cafeteria; CI: lot obèse insecticide, consommant le régime cafeteria supplémenté par l'insecticide à la même dose DJA.

Après vérification de la distribution normale des variables (test Shapiro – Wilk), la comparaison des moyennes entre les différents groupes de rates est effectuée par le test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétée par le test Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux.

Les différences significatives entre les différents lots sont marquées par des lettres différentes (a,b,c,d).

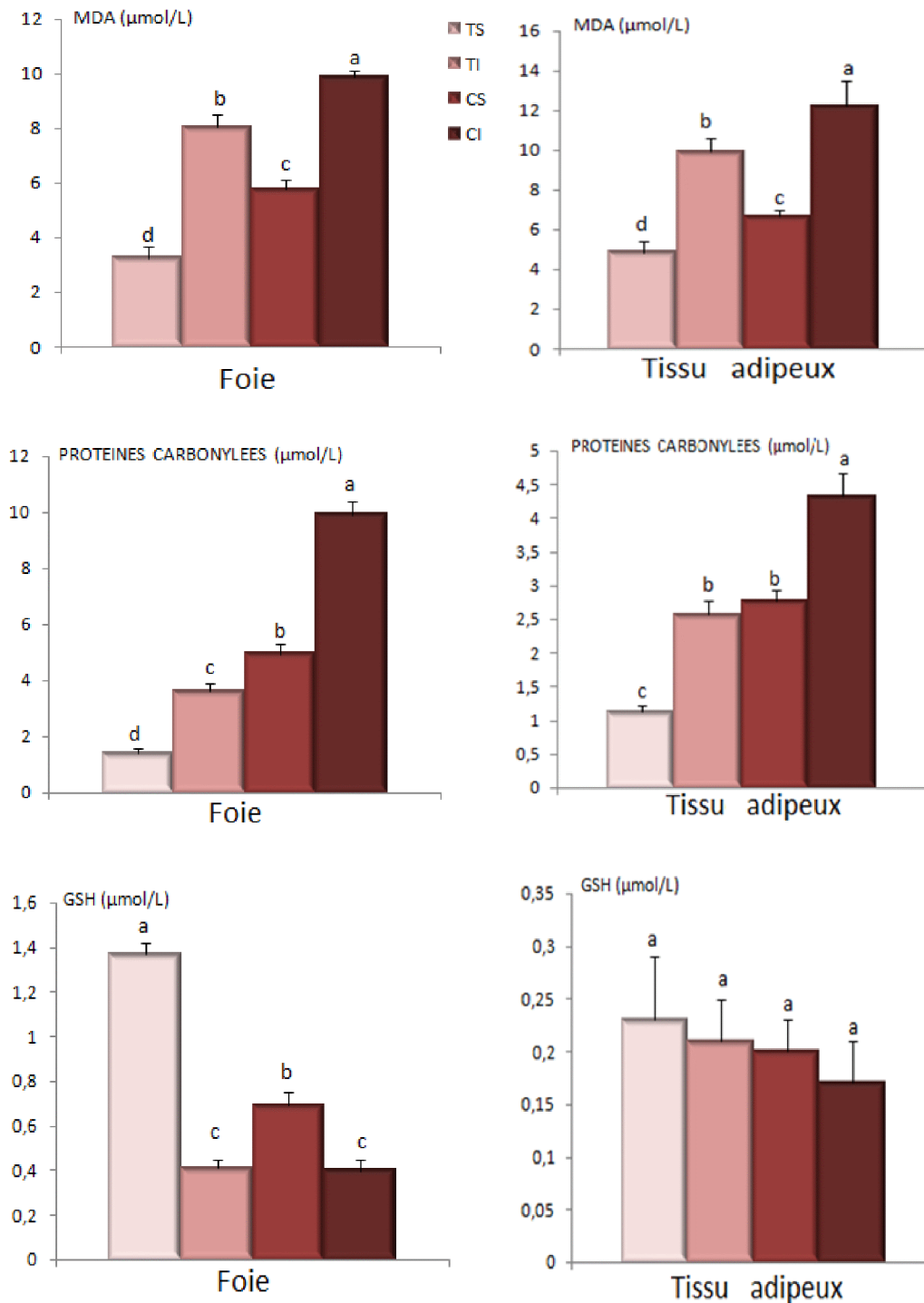


Figure 8. Balance redox du foie et du tissu adipeux chez les rates

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type, à partir de 8 rates par lot. GSH : glutathion réduit ; MDA : malondialdéhyde; TS: lot témoin consommant le régime standard; TI: lot témoin insecticide consommant le régime standard supplémenté par l'insecticide alpha-cyperméthrine à la dose DJA de 0,02mg/kg/jour; CS: lot obèse consommant le régime cafeteria; CI: lot obèse insecticide, consommant le régime cafeteria supplémenté par l'insecticide à la même dose DJA.

Après vérification de la distribution normale des variables (test Shapiro – Wilk), la comparaison des moyennes entre les différents groupes de rates est effectuée par le test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétée par le test Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les différences significatives entre les différents lots sont marquées par des lettres différentes (a,b,c,d).

Tableau 8. Balance redox du muscle, du cerveau et des reins chez les rates

	TS	TI	CS	CI	P (ANOVA)
MDA ($\mu\text{mol/g}$)					
Muscle	2,63 \pm 0,34 ^d	6,48 \pm 0,49 ^b	3,84 \pm 0,35 ^c	9,57 \pm 0,51 ^a	0,001
Cerveau	1,48 \pm 0,34 ^c	4,95 \pm 0,32 ^b	1,90 \pm 0,31 ^c	5,97 \pm 0,49 ^a	0,004
Reins	1,65 \pm 0,21 ^c	3,71 \pm 0,33 ^b	3,98 \pm 0,34 ^b	4,81 \pm 0,35 ^a	0,005
Protéines carbonylées ($\mu\text{mol/g}$)					
Muscle	2,58 \pm 0,20 ^c	8,41 \pm 0,80 ^a	6,73 \pm 0,51 ^b	8,22 \pm 0,48 ^a	0,005
Cerveau	1,66 \pm 0,31 ^b	4,55 \pm 0,38 ^a	1,78 \pm 0,35 ^b	4,37 \pm 0,46 ^a	0,008
Reins	1,16 \pm 0,22 ^d	3,56 \pm 0,36 ^b	2,87 \pm 0,19 ^c	4,47 \pm 0,20 ^a	0,001
Glutathion réduit ($\mu\text{mol/g}$)					
Muscle	0,31 \pm 0,02 ^a	0,18 \pm 0,03 ^b	0,32 \pm 0,04 ^a	0,16 \pm 0,02 ^b	0,005
Cerveau	0,17 \pm 0,03 ^a	0,15 \pm 0,02 ^a	0,18 \pm 0,02 ^a	0,17 \pm 0,04 ^a	0,163
Reins	0,56 \pm 0,04 ^a	0,33 \pm 0,02 ^b	0,38 \pm 0,03 ^b	0,21 \pm 0,02 ^c	0,006

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type, à partir de 8 rates par lot. GSH : glutathion réduit ; MDA : malondialdéhyde; TS: lot témoin consommant le régime standard; TI: lot témoin insecticide consommant le régime standard supplémenté par l'insecticide alpha-cyperméthrine à la dose DJA de 0,02mg/kg/jour; CS: lot obèse consommant le régime cafeteria; CI: lot obèse insecticide, consommant le régime cafeteria supplémenté par l'insecticide à la même dose DJA.

Après vérification de la distribution normale des variables (test Shapiro – Wilk), la comparaison des moyennes entre les différents groupes de rates est effectuée par le test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétée par le test Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux.

Les différences significatives entre les différents lots sont marquées par des lettres différentes (a,b,c,d).

Au niveau du cerveau, aucun changement significatif du taux en GSH n'est noté. Au niveau des reins, l'obésité et l'insecticide provoquent une réduction significative des taux en GSH, les valeurs les plus faibles sont observées chez les rates CI.

6. Activités enzymatiques chez les rates

6.1. Activités des enzymes adipocytaires acyl CoA déshydrogénase, acide gras synthase et G3PDH chez les rates (Figure 9 et Tableau A5 en annexe)

Les activités des enzymes adipocytaires acide gras synthase et glycérol 3 phosphate déshydrogénase (G3PDH) sont significativement augmentées alors que l'activité adipocytaire de l'enzyme acyl CoA déshydrogénase est significativement réduite chez les rates obèses CS et CI en comparaison avec leurs témoins respectifs, TS et TI. Le traitement par l'insecticide n'affecte pas les activités de l'enzyme G3PDH et de l'enzyme acyl CoA déshydrogénase aussi bien chez les rates témoins que chez les obèses. Cependant, ce traitement entraîne une réduction significative de l'activité de l'enzyme acide gas synthase chez les témoins et chez les obèses.

6.2. Activités des lipases (Tableau 9)

L'activité de la lipase hormono-sensible du tissu adipeux (LHS) est significativement élevée chez le lot de rates obèses nourries au régime cafeteria (CS vs TS). La supplémentation par l'insecticide induit une réduction significative de l'activité LHS chez les obèses (CI vs CS) mais pas chez les témoins.

L'activité de la lipoprotéine lipase (LPL) au niveau du foie et du tissu adipeux est hautement plus élevée chez les obèses en comparaison aux témoins (CS vs TS ou CI vs TI); par contre, l'insecticide n'affecte pas son activité.

L'activité de la LPL au niveau du muscle, du cerveau et des reins ne présente aucune variation chez les différents lots de rates, et n'est affectée ni par le régime ni par l'insecticide.

6.3. Activités sériques des enzymes transaminases (GPT, GOT) et de la phosphatase alcaline (ALP) (Figure 10 et Tableau A6 en annexe)

L'obésité ne provoque pas de variation significative des activités sériques des transaminases glutamo-oxaloacétique (TGO) et glutamo-pyruvique (TGP) et de l'enzyme sérique phosphatase alcaline (ALP) chez les rates CS ou CI comparées à leurs témoins respectifs TS ou TI. Le traitement par l'alpha-cyperméthrine aboutit à une augmentation significative des activités sériques des transaminases GPT, GOT et la ALP, que ce soit chez les rates obèses nourries au régime cafeteria (CI vs CS) ou chez les rates témoins nourris au régime standard (TI vs TS).

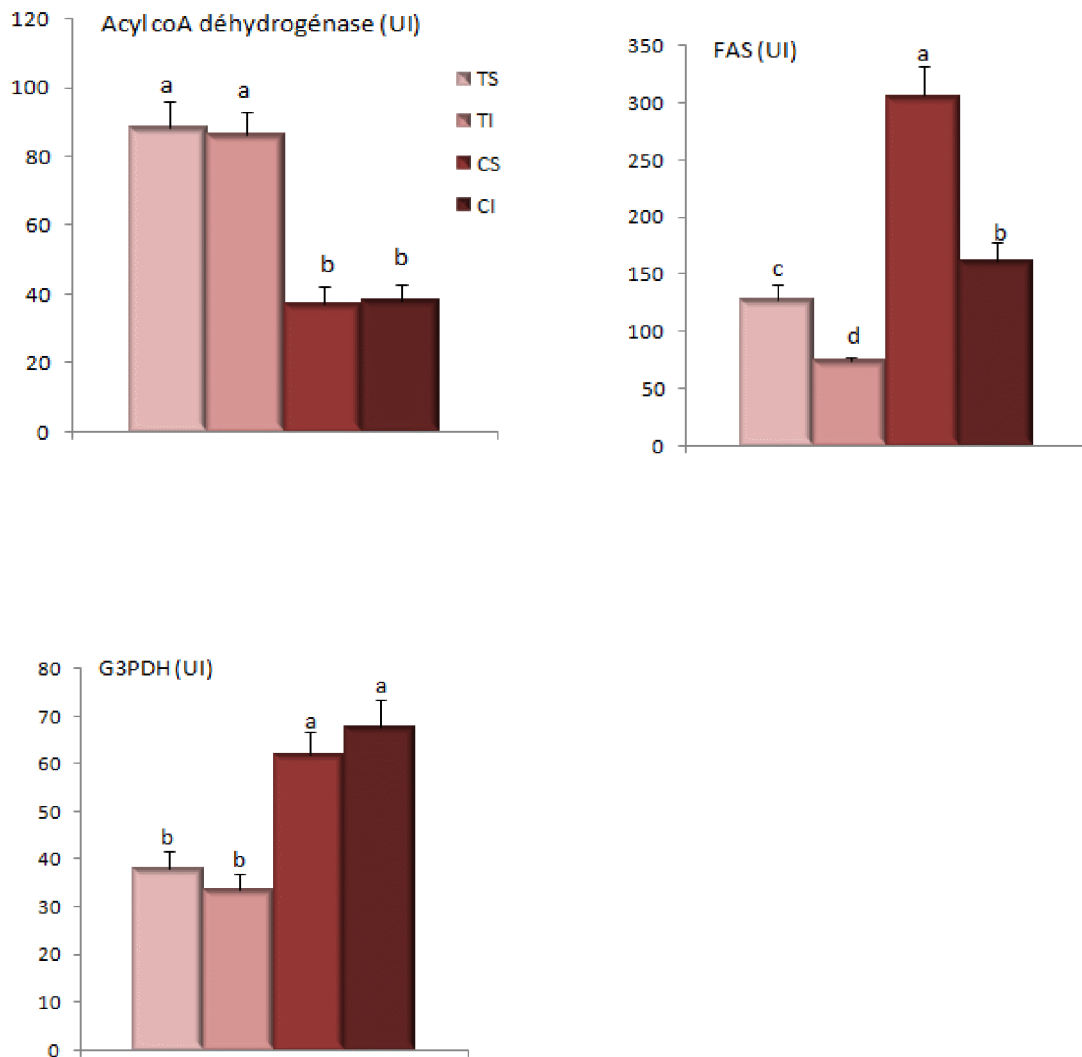


Figure 9. Activités des enzymes adipocytaires acyl CoA déshydrogénase, FAS et G3PDH chez les rates

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type, à partir de 8 rates par lot. FAS : acide gras synthétase ; G3PDH : glycérol 3 phosphate déshydrogénase; TS: lot témoin consommant le régime standard; TI: lot témoin insecticide consommant le régime standard supplémenté par l'insecticide alpha-cyperméthrine à la dose DJA de 0,02mg/kg/jour; CS: lot obèse consommant le régime cafeteria; CI: lot obèse insecticide, consommant le régime cafeteria supplémenté par l'insecticide à la même dose DJA.

Après vérification de la distribution normale des variables (test Shapiro – Wilk), la comparaison des moyennes entre les différents groupes de rates est effectuée par le test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétée par le test Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux.

Les différences significatives entre les différents lots sont marquées par des lettres différentes (a,b,c,d)

Tableau 9. Activités des lipases chez les rates

	TS	TI	CS	CI	P (ANOVA)
LHS (U/min)	41,46±3,19 ^b	42,25±4,33 ^b	80±6,03 ^a	45,25±4,62 ^b	0,006
LPL (U/min)					
Foie	120±20,69 ^b	150±23,69 ^b	278,75±30,13 ^a	260±29,28 ^a	0,030
Tissu adipeux	288,75±29,91 ^b	268,75±33,35 ^b	402,5±34,71 ^a	418,75±33,57 ^a	0,020
Muscle	48,75±3,65 ^a	43,75±3,48 ^a	46,25±2,79 ^a	45±4,71 ^a	0,147
Cerveau	34,05±2,02 ^a	33±3,28 ^a	36,25±4,67 ^a	35±3,93 ^a	0,248
Reins	37,55±3,35 ^a	35,25±2,04 ^a	36,25±2,87 ^a	36,98±4,40 ^a	0,314

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, à partir de 8 rates par lot. LHS: lipase hormono-sensible; LPL: lipoprotéine lipase; TS: lot témoin consommant le régime standard; TI: lot témoin insecticide consommant le régime standard supplémenté par l'insecticide alpha-cyperméthrine à la dose DJA de 0,02mg/kg/jour; CS: lot obèse consommant le régime cafeteria; CI: lot obèse insecticide, consommant le régime cafeteria supplémenté par l'insecticide à la même dose DJA.

Après vérification de la distribution normale des variables (test Shapiro – Wilk), la comparaison des moyennes entre les différents groupes de rates est effectuée par le test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétée par le test Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux.

Les différences significatives entre les différents lots sont marquées par des lettres différentes (a,b,c,d).

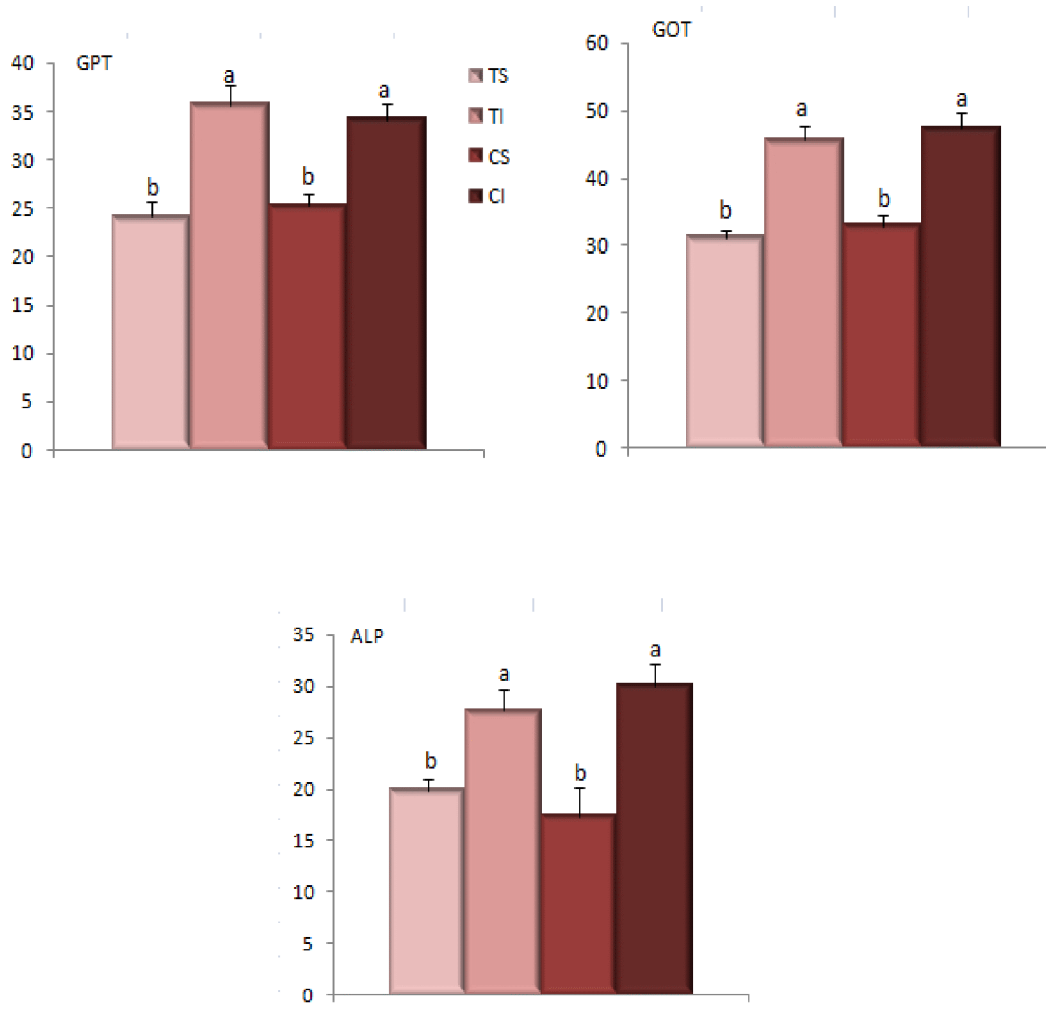


Figure 10. Activités sériques des enzymes transaminases (GPT, GOT) et de la phosphatase alcaline (ALP)

Chaque valeur représente la moyenne \pm Ecart type, à partir de 8 rates par lot. GOT: transaminase glutamo-oxaloacétique; GPT: transaminase glutamo-pyruvique; TS: lot témoin consommant le régime standard; TI: lot témoin insecticide consommant le régime standard supplémenté par l'insecticide alpha-cyperméthrine à la dose DJA de 0,02mg/kg/jour; CS: lot obèse consommant le régime cafeteria; CI: lot obèse insecticide, consommant le régime cafeteria supplémenté par l'insecticide à la même dose DJA.

Après vérification de la distribution normale des variables (test Shapiro – Wilk), la comparaison des moyennes entre les différents groupes de rates est effectuée par le test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétée par le test Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux.

Les différences significatives entre les différents lots sont marquées par des lettres différentes (a,b,c,d).

DISCUSSION

L'utilisation des pesticides a connu une augmentation accrue ces dernières années, dans le but d'améliorer et d'optimiser les rendements agricoles. Ce fait a conduit à leur dissémination dans tous les milieux de l'environnement et pour certains à une persistance à long terme.

Leur impact négatif sur les différents organismes et l'environnement nécessite une inquiétude particulière du grand public. Ils sont en effet fréquemment mis en cause dans la dégradation de la qualité des eaux douces souterraines et des eaux côtières, de l'air et du sol, dans la réduction de la biodiversité terrestre constatée dans les zones agricoles et dans les milieux naturels contaminés ou bien encore dans des cas de surmortalité des abeilles et de baisse de production des ruches (Aubertot et al., 2005).

En Algérie, l'emploi des pesticides dans l'agriculture est jusqu'à présent le moyen de protection prépondérant mais leur effet délétère reste encore mal connu ainsi que leur répercussion sur la santé de l'homme. Par manque d'études et de législation sur ce sujet, leur application est devenue sans restriction.

Depuis une quarantaine d'années, les pyréthrinoides ont peu à peu remplacé les insecticides organophosphorés qui eux-mêmes substituaient les insecticides organochlorés. Ils sont un premier choix pour la lutte antiparasitaire et l'augmentation de la production car ces produits chimiques ont été considérés comme potentiellement toxiques pour les mammifères et les oiseaux mais très sélective et efficace envers leurs cibles. Les pyréthrinoides sont des insecticides synthétiques universels, et sont parmi les produits chimiques les plus couramment utilisés aujourd'hui (John et al., 2009). L'alpha-cyperméthrine est une molécule fréquemment utilisée de la famille des pyréthrinoides de type II. Elle est utilisée pour contrôler de nombreux ravageurs, y compris les mites et les ravageurs de coton, de soja et d'autres cultures (Carriquirborde et al., 2007). En raison de sa faible toxicité pour les mammifères, l'alpha-cyperméthrine a également été utilisée dans la lutte contre les parasites domestiques.

Lors de l'administration des pyréthrinoides aux mammifères, la biotransformation se fait par hydrolyse de la liaison ester central, et divers attaques oxydatives sur plusieurs sites, qui finissent par des réactions de conjugaison pour produire un ensemble de métabolites primaires et secondaires solubles dans l'eau qui subissent l'excrétion urinaire (Todd et al., 2003).

Pour les pyréthrinoides halogénés (tels que la cyfluthrine, la cyperméthrine, la perméthrine), un clivage hydrolytique rapide de la liaison ester est suivie d'une oxydation pour donner des dérivés d'acides carboxyliques et des dérivés de l'acide phénoxybenzoïque (Leng et al., 1997). Ces métabolites sont alors en général métabolisés et se conjuguent avec d'autres tels que la glycine, le sulfate, et l'acide

glucuronique (Aprea et al., 1997). Il existe peu d'informations sur les enzymes spécifiques impliquées dans le métabolisme des pyréthrinoides, mais il semble que des carboxylases microsomales et des oxydases situées dans différents tissus sont engagés dans ce métabolisme.

Le métabolisme des pyréthrinoides assure l'élimination de ces toxiques, mais il peut y avoir des fuites et une accumulation dans certains organes, qui peuvent causer à long terme des perturbations métaboliques allant jusqu'à l'apparition de maladies.

Une évaluation quantitative des risques devrait prendre en compte les dernières études, car les pesticides commencent juste à être étudiés sous l'angle biocide en particulier, pour lequel il n'y a encore que très peu de données. De plus, l'évolution dans le temps est un facteur à ne pas négliger. En plus de leur lipophilie, les molécules pénètrent plus facilement les tissus et sont moins bien métabolisées. On peut les trouver dans tous les tissus mais ils se concentrent surtout dans les tissus riches en lipides comme les graisses ou le tissu nerveux (Anadon et al., 1996).

Toutefois, un certain nombre d'études ont suggéré que les pyréthrinoides ont un potentiel hépatotoxique, cancérigène, neurotoxique et immunosuppresseur chez les mammifères (Nasuti et al., 2007).

Puisque les femmes enceintes et les fœtus sont cumulativement exposés à de multiples produits chimiques, ces expositions peuvent interagir les uns avec les autres, et amplifier les effets négatifs en diminuant la qualité de leur santé (Mitro et al., 2015). Les femmes obèses sont à risque beaucoup plus élevé de complications de la grossesse que les femmes de poids normal, puisqu'elles possèdent plus de tissu adipeux susceptible d'accumuler plus de pesticides lipophiles. De plus, il semble que les fœtus de femmes obèses sont programmés pour des complications de santé futures. En effet, le concept de «programmation» repose sur le fait que toute agression maternelle survenant pendant des périodes critiques du développement (grossesse et premiers mois de vie) peut avoir un effet à long terme voire définitif sur l'organisme avec apparition de pathologies métaboliques chez la progéniture. Aucune étude sur l'exposition aux pesticides au cours de la gestation en présence de l'obésité n'a été réalisée à ce jour, ce qui met en relief l'originalité de cette thèse de doctorat.

Les objectifs de notre travail sont d'étudier les effets métaboliques de l'exposition à l'alpha-cyperméthrine au cours de la gestation en présence d'une obésité alimentaire en utilisant un modèle animal, la rate wistar, et d'étudier son impact sur le statut redox. Notre étude permet d'éclaircir l'effet cumulatif de l'exposition aux insecticides à faible dose pendant la gestation associée à l'obésité sur le métabolisme et la balance oxydante/antioxydante.

L'obésité expérimentale est induite par le régime cafeteria qui est un régime hypercalorique et hyperlipidique favorisant une hyperphagie chez l'animal, et par la suite l'installation d'une obésité.

Nos résultats montrent une augmentation significative du poids corporel des rates obèses CS comparées aux rates témoins TS, et chez les rates exposées à de faible dose de l'alpha-cyperméthrine, qu'elles soient témoins TI ou obèses CI; le gain pondéral le plus important est mentionné chez les rates CI. L'augmentation du poids corporel chez les rates obèses est causée par le régime cafeteria qui est un régime hypercalorique et hyperlipidique induisant une obésité expérimentale. Ceci est lié à la consommation alimentaire et l'apport énergétique qui sont plus importants chez les obèses CS ou CI comparées à leurs témoins respectifs (TS et TI). Il est connu que le régime cafeteria est un régime appétissant induisant une hyperphagie. Bouanane et ses collaborateurs ont trouvé que le régime cafeteria induit une obésité consécutive à une hyperphagie observée chez la rate au cours de la gestation et chez les rats en période postnatale (Bouanane et al., 2009).

L'obésité expérimentale causée par le régime cafeteria explique donc le gain pondéral important observé chez les rates obèses. Cependant, concernant le lot témoin TI, l'augmentation du poids corporel n'est pas très claire mais peut être expliquée par les différentes perturbations métaboliques induites par l'exposition aux insecticides (Baconi et al., 2013). Des études précédentes ont révélés, qu'il y a une élévation du poids corporel des souris exposées à d'autres pesticides, accompagnée d'une intolérance au glucose et d'une résistance à l'insuline (Lim et al., 2009). Par contre, d'autres études montrent qu'il n'y a aucun changement du poids corporel chez les rats exposés à la cyperméthrine comparés aux témoins (Sayim et al., 2005). Aldana et al. (2001) rapportent une diminution significative du poids corporel chez des rats exposés à une forte dose de cyperméthrine. Aussi, l'utilisation de lambda cyhalothrine (insecticide de la même famille) a induit une diminution du poids corporel, avec diminution du poids relatif du foie (Fetoui et al., 2009). Les résultats sont donc contradictoires et semblent être liés à la dose utilisée et à la durée de l'exposition aux pesticides.

Les nouveau-nés des mères obèses présentent les poids les plus importants comparés à la progéniture de mère témoins. Il a été démontré, que dans la majorité des cas, les nouveau-nés de mères obèses sont obèses à la naissance (Merzouk et al., 2000). Ceci est expliqué par la suralimentation maternelle suite à la consommation du régime cafeteria qui aboutit à un transfert accru des nutriments à travers le placenta vers le fœtus induisant une suralimentation fœtale et augmentation du poids de naissance. Ce phénomène est appelé la programmation

épigénétique. Le statut énergétique maternel est impliqué dans la prédisposition des enfants à un risque accru d'obésité (Sullivan et al., 2010).

L'augmentation du poids corporel chez les rates témoins TI et obèses CS et CI est associée à l'augmentation du poids du tissu adipeux par rapport aux témoins TS. Il a été démontré précédemment, que l'augmentation du poids corporel représente une augmentation du tissu adipeux (Meggs et Brewer, 2007). Concernant les lots exposés aux insecticides TI et CI, on peut expliquer cette adiposité par le fait, que les pesticides peuvent induire une différenciation accélérée des adipocytes immatures en cellules adipeuses matures. Ceci est un mécanisme potentiel du gain pondéral (Meggs et Brewer, 2007).

Le poids du foie chez les lots de rats obèses CS ou CI est significativement important par rapport aux témoins, quelque soit l'exposition ou non aux insecticide. Cela concorde avec les résultats de Milagro et al. (2006) qui montrent que le poids total du foie est augmenté de 36% chez les rats nourris au régime cafeteria en comparaison avec un groupe témoin. Nos résultats ne montrent aucun changement significatif du poids des autres organes (muscle, cerveau, poumon, rate, cœur et reins).

Dans notre travail, le régime cafeteria ainsi que l'exposition à l'alpha-cyperméthrine induisent une élévation significative des teneurs sériques en glucose et en lipides (triglycérides et cholestérol) chez les rates témoins et obèses CI. Cet effet métabolique concorde avec l'étude de Yousef et al. (2003) utilisant le même insecticide. Elsharkawy et al. (2013) ont rapporté une hyperglycémie et une hypercholestérolémie chez le rat suite à une exposition de 3 mois à un pesticide d'une autre famille. Aussi, une augmentation des valeurs de triglycérides sériques est notée chez des lapins mâles exposés à la cyperméthrine après six semaines d'expérimentation (Yousef et al., 2003).

La gestation est caractérisée par d'importantes ajustements physiologiques liés au développement du fœtus et à l'apparition d'un nouveau secteur circulatoire avec un état de vasodilatation majeur, afin d'améliorer la perfusion du territoire fœto-placentaire. Pour assurer un apport nutritif plus important au fœtus, la sensibilité à l'insuline change pendant le développement de la grossesse avec installation d'une insulino-résistance progressive qui conduit à la fin de gestation à une élévation de la glycémie et des lipides plasmatiques. L'insulino-résistance résulte de l'action des hormones placentaires (Ryan, 2003). Les taux sériques en cholestérol, triglycérides et phospholipides augmentent en fin de grossesse (Kaabachi et al., 1992). Cette hyperlipidémie est un résultat de l'adaptation métabolique de grossesse, préservant le glucose pour le fœtus (Dejager et al., 1996). Elle est accentuée en cas d'obésité maternelle. Merzouk et ses collaborateurs (2000) ont démontré des niveaux sériques

en triglycérides et en cholestérol nettement plus élevés chez des femmes enceintes obèses.

En cas d'exposition aux pesticides, l'augmentation du taux de glucose reflète probablement une mobilisation accrue de glucose (Veerappan et al., 2012), due à la réduction de la sécrétion d'insuline en raison de l'action destructrice de la cyperméthrine sur les cellules bêta des îlots Langerhans du pancréas (Eraslan et al., 2008), ou à une déficience de la fonction hépatique, ce qui réduit la glycogénèse (Bhatti et al., 2014) et la stimulation de la gluconéogenèse hépatique et la glycogénolyse (Bhanu et Deepak, 2015).

L'hyperglycémie résulte de la résistance à l'insuline qui est le lien pathologique entre l'obésité et plusieurs troubles métaboliques souvent appelés syndrome métabolique. Bien que de nombreux facteurs soient impliqués dans la pathogenèse de la résistance à l'insuline, un apport alimentaire élevé en acides gras saturés semble être un facteur important (Cnop, 2008; Sampey et al., 2011). Les régimes occidentaux riches en graisses saturées provoquent l'obésité, la résistance à l'insuline et augmentent les niveaux des acides gras libres circulants; et contribuent à l'activité insuffisante des cellules- β chez les individus génétiquement prédisposés. Les acides gras libres provoquent l'apoptose des cellules- β et peuvent ainsi contribuer à la perte progressive de ces cellules et au diabète de type 2. Le stress du réticulum endoplasmique a également été proposé comme un mécanisme de liaison de l'obésité induite par l'alimentation riche en graisses avec la résistance à l'insuline (Cnop, 2008). D'autre part, l'exposition chronique de la cellule bêta à des concentrations importantes de glucose provoque un stress oxydatif accompagné d'une détérioration dans l'expression du gène de l'insuline qui en résulte une diminution remarquable de l'insuline (Robertson et al., 1992).

Aussi, le glucose est converti en glucose -6-phosphate par l'action de l'hexokinase pour rejoindre la voie de la glycolyse. Au cours d'une hyperglycémie chronique, l'hexokinase est saturée, et par conséquent, le glucose est accumulé dans les tissus périphériques et dans la cellule bêta du pancréas. Un niveau élevé de glucose dans les cellules bêta peut activer les voies de signalisation apoptotiques (Burg, 1995).

Il est connu que les adipocytes sécrètent de nombreux médiateurs pro-inflammatoires (Deng et Scherer, 2010), tels que le facteur de nécrose tumorale (TNF- α) et l'interleukine-6 (IL-6) qui ont un impact sur l'ensemble du corps, y compris le foie, le muscle et les cellules adipocytaires. En outre, de nombreux éléments ont montré que l'activation chronique des voies pro-inflammatoires dans les cellules cibles peut favoriser la résistance à l'insuline. Ces mécanismes peuvent expliquer les anomalies

observées chez les lots de rates obèses présentant une hyperglycémie accentuée par l'effet de l'insecticide.

Nos résultats montrent que les rates sous régime cafétéria présentent une augmentation de l'adiposité et un phénotype analogue au syndrome métabolique caractérisé par une hyperglycémie, une hyperlipidémie et un stress oxydatif, en accord avec les études précédentes (Bouanane et al., 2010). De plus, dans notre travail, ces altérations sont encore plus accentuées chez le lot obèse exposé à l'insecticide marquant l'effet perturbateur de l'alpha-cyperméthrine, même à faible dose.

Plusieurs études expérimentales se sont intéressées aux effets des pesticides sur le profil lipidique et les paramètres lipoprotéiques (Zama et al., 2005). L'administration orale de lindane, un pesticide organochloré, induit chez le rat Wistar une hépatotoxicité et une modification du profil lipidique qui se manifeste par une augmentation du taux de cholestérol, des triglycérides plasmatiques et celle des VLDL et des LDL avec une diminution non significative du taux de HDL (Sharma et al., 2010).

L'hypercholestérolémie causée par l'utilisation des pesticides peut être liée à différents mécanismes touchant les voies de synthèse ou de catabolisme. Il est intéressant de souligner que le chlorpyrifos (un pesticide organophosphoré) a comme cible les enzymes clés liées au métabolisme des lipides (Quistad et al., 2006). L'augmentation du taux de cholestérol sérique peut être attribuée à la perturbation du métabolisme des lipoprotéines, comme a été démontré pour d'autres pesticides (Rai et al., 2009).

Dans notre étude, le taux en cholestérol est augmenté chez les rates obèses au niveau de tous les organes à l'exception du tissu adipeux. Il est percevable que l'alpha-cyperméthrine accentue ces augmentations chez les obèses. L'élévation de la synthèse du cholestérol hépatique chez les rats expérimentaux par rapport à leurs témoins peut être interprétée par l'excès d'acétyl-coA provenant de l'hyperglycémie observée chez ces rats.

Les résultats d'une étude précédente montrent que la cyperméthrine a provoqué une augmentation significative des taux plasmatiques de lipides totaux, de cholestérol, de triglycérides (TG), des lipoprotéines de faible densité (LDL) et des lipoprotéines de très basse densité (VLDL), tandis que les lipoprotéines de haute densité (HDL) ont diminué (Youcef et al., 2003). Par contre, l'étude d'Abdel-Rahim et al. (2009) montre une diminution du taux des triglycérides, de cholestérol, des lipides totaux et des phospholipides chez des rats traités par la cyperméthrine, ce pesticide altère aussi les paramètres lipoprotéiques et l'indice atherogénique.

Nous observons aussi que le taux des TG augmente au niveau du foie, du muscle, du cerveau et des reins chez les rates obèses, et cette augmentation est plus significative chez les rates nourries aux régimes contenant l'alpha-cyperméthrine, ce qui n'est pas le cas du tissu adipeux qui présente une diminution du taux de TG chez les lots traités. L'accumulation de triglycérides dans les organes est justifiée par une surproduction de triglycérides par le foie suite à une augmentation du flux de glucose et d'acides gras libres au foie et /ou une diminution du catabolisme par inhibition de la lipoprotéine lipase (LPL).

Ainsi, l'hypertriglycéridémie hépatique induite par les pesticides peut être expliquée par l'excès de synthèse des triglycérides hépatiques. La réduction des TG dans le tissu adipeux peut être expliquée par la réduction de l'activité LPL ou alors augmentation de l'activité de la lipase hormonosensible (LHS) avec lipolyse accentuée. Les pesticides peuvent perturber le profil hormonal et enzymatique.

Des changements importants dans le profil métabolique lipidique ont été observés au niveau du cerveau, du foie et des bronches chez le poisson *Tilapia mossambica* sous une exposition chronique à des concentrations sub-létales de la cyperméthrine. L'augmentation des lipides totaux, de lipase et d'acides gras libres avec diminution de la teneur en glycérol suggère l'utilisation simultanée de la lipogénèse et la lipolyse lors d'un stress causé par l'insecticide. Le taux des phospholipides a diminué, tandis que la teneur en cholestérol a augmenté dans tous les tissus suite à la toxicité de la cyperméthrine (Reddy et al., 1991).

Du fait de la faible capacité d'autorégulation oxydative des substrats lipidiques, un excès d'apport lipidique est en majeure partie stocké dans le tissu adipeux entraînant à long terme une augmentation de la masse adipeuse et son dysfonctionnement, ce qui induit des conséquences dramatiques dans différents tissus (Gauvreau et al., 2011). Kim et al. (2000) ont établi que l'accumulation des triglycérides dans le muscle et le foie est liée à l'insulino-résistance, provenant d'une perturbation de la signalisation insulinique dans ces tissus. Cela peut expliquer l'augmentation significative du taux de TG hépatique chez les rates expérimentaux par rapport aux témoins.

L'étude de Chiali et al. (2013) révèle une augmentation de la synthèse des graisses par le foie induit par le pesticide metribuzine. Cette élévation peut être attribuée à une inhibition de l'activité de l'enzyme lipase plasmatique et hépatique (Goldberg et al., 1982). Pour l'équipe de Unger (2003), seul le tissu adipeux est prévu pour accumuler des TG (enzymes et récepteurs spécifiques pour ce stockage), si d'autres tissus en accumulent (graisse ectopique), leur fonction serait altérée. Une étude sur des rats nourris avec un régime riche en graisses suggère que l'accumulation de graisse ectopique est un meilleur indicateur de la résistance à l'insuline (Lim et al., 2009).

De nombreuses substances chimiques à faible concentration influencent le métabolisme, en diminuant ou en augmentant l'activité normale des enzymes (Ekinci et Beydemir, 2009). La Lipoprotéine Lipase (LPL) est une enzyme clé de l'hydrolyse des triglycérides des chylomicrons et des VLDL. La LPL est synthétisée par le cœur, le muscle squelettique, le tissu adipeux, les glandes mammaires, les macrophages, la rate, le poumon et le rein (Pulinilkunnil et Rodrigues, 2006). La LPL catalyse l'hydrolyse des triglycérides et des phospholipides des VLDL et des chylomicrons en acides gras non estérifiés et en 2-monoacylglycérol pour l'utilisation tissulaire. Après l'hydrolyse, les lipoprotéines diminuent de taille et deviennent des remnants de chylomicrons ou de VLDL (Merkel et al., 2002).

Nos résultats montrent une augmentation de l'activité de la LPL adipocytaire et hépatique chez les rats obèses par rapport aux témoins quelque soit l'exposition à l'insecticide, ce qui est en accord avec les études de Eckel et Yost (1987) et de Bessesen et al. (1991) qui ont montré que l'obésité chez l'homme et chez les rongeurs est caractérisée par une augmentation de l'expression de la LPL par l'adipocyte, ce qui facilite la synthèse des TG à partir des AGL, et participe ainsi à l'excès du tissu adipeux. L'augmentation de l'activité de la LPL adipocytaire chez les rats expérimentaux peut être aussi due à l'hyperglycémie observée chez ces rats. En effet, Ong et Kern (1989) ont montré que le glucose *in vitro* augmente l'activité et la synthèse de la LPL par les adipocytes en culture. L'augmentation des triglycérides au niveau de foie et du tissu adipeux peut être expliquée par l'augmentation de la LPL hépatique et adipocytaire. Les Rats obèses affichent également l'accumulation des triglycérides dans le muscle malgré une activité de la LPL musculaire normale, comme indiqué précédemment (Dourmashkin et al., 2005).

Dans notre étude, l'exposition à l'alpha-cypermethrine n'a aucun effet sur l'activité de la LPL, par contre, d'autres pesticides ont provoqué des perturbations du métabolisme lipidique démontrées par une augmentation significative de la LPL musculaire, adipocytaire et intestinale, confirmant ainsi l'augmentation des TG au niveau du muscle et l'intestin (Chiali et al., 2013).

La LHS est une enzyme capable d'hydrolyser les TG, les diglycérides ainsi que le cholestérol (Langin, 2000). La régulation de son activité se fait par des phosphorylations sur des résidus sérines via la PKA et la PKG (Mazzucotelli et Langin, 2006). Des agents lipolytiques à action rapide (catécholamines, peptides) provoquent cette phosphorylation. Tandis que, l'insuline induit une déphosphorylation de la LHS et entraîne ainsi l'inactivation de l'enzyme (Miyoshi et al., 2006). Nos résultats montrent que la LHS est augmentée chez les obèses, mais son taux a diminué chez les obèses traités par l'insecticide. Ces anomalies peuvent être induites

par un autre mécanisme dû à l'accumulation de pesticide dans les adipocytes. Ainsi, l'expression de la LHS est réduite chez les obèses d'après certains auteurs, ce qui n'est pas en accord avec nos résultats. Une déficience de la lipolyse et une expression réduite de la LSH dans les adipocytes sont observées dans l'obésité (Eldeeb et al., 2013). Langin (2005) a observé une relation entre la baisse de la capacité lipolytique stimulée et la baisse de l'expression de la LHS dans des adipocytes de sujets obèses différenciées en culture primaire. Dans notre travail, l'augmentation de la LHS chez les rates obèses se fait suite à l'augmentation de la LPL suite à un mécanisme régulateur permettant au tissu adipeux de se protéger contre l'accumulation excessive en TG.

Chiali et ses collaborateurs (2013) ont mentionné l'augmentation du taux LHS après l'exposition aux pesticides. Dans notre travail, malgré l'élévation de l'expression de la LHS, les taux de TG au niveau du tissu adipeux restent élevés chez les rates obèses, indiquant une synthèse dépassant la dégradation. Néanmoins, l'élévation de la LHS peut facilement expliquer la réduction du cholestérol au niveau du tissu adipeux en présence de l'insecticide.

Concernant la Glycerol 3phosphate dehydrogenase (G3PDH), nous avons noté son augmentation chez les rates obèses comparés aux témoins, et que l'insecticide n'a provoqué aucun changement de cette activité. Benkalfat et ses collaborateurs (2011) ont mentionné que la progéniture de rates obèses nourris au régime cafeteria présente une augmentation du poids du tissu adipeux et de son contenu en TG accompagné de l'élévation des enzymes de stockage à savoir la LPL et la G3PDH. Ces résultats concordent avec d'autres études précédentes (Rolland et al., 1996). Cela est expliqué par la contribution de l'hyperglycémie qui est compatible avec le taux élevé de l'activité G3PDH, puisque le glucose peut être utilisé pour la lipogenèse de novo après estérification des acides gras avec du glycérol 3-phosphate (Haugen et al., 2007). L'augmentation de la G3PDH est expliquée aussi par une élévation du taux d'adiponectine qui stimule l'absorption du glucose (Benkalfat et al., 2011).

Aussi, nos résultats montrent que la FAS est significativement élevée chez les lots obèses, mais l'exposition à l'alpha-cypermethrine a diminué son activité aussi bien chez les rates témoins qu'obèses. Ceci est compréhensible vu son rôle important dans la lipogenèse et l'apparition de l'obésité. L'élévation de l'activité de la FAS est supportée par l'état d'hyperglycémie observé chez les rats obèses puisque le glucose est la principale source d'acétyl-CoA qui est nécessaire pour la synthèse des acides gras. Nos résultats concordent avec ceux de Bouanane et al. (2010) qui indiquent que la progéniture de rats obèses avait présenté une augmentation de l'activité de la FAS accompagné d'une diminution de l'acyl-CoA déshydrogénase. La surproduction de

VLDL et l'augmentation des lipides hépatiques sont des caractéristiques connues de l'obésité, et sont une conséquence directe de l'hyperinsulinémie et d'une hyperlipogénèse hépatique (Bioletto et al., 2000). Il a été démontré précédemment que l'augmentation de la sécrétion d'acides gras, l'augmentation de la lipogénèse de novo ou la diminution de l'oxydation des acides gras dans le foie pourrait conduire à l'accumulation de TG et à la stéatose hépatique (Postic et Girard, 2008), ce qui peut expliquer nos résultats.

Il a été suggéré que l'alimentation des rates par un régime cafeteria induit une réduction permanente de la β -oxydation hépatique, et une augmentation de la lipogénèse qui peut causer une stéatose au niveau du foie et une altération du profil d'acides gras chez sa progéniture (Bouanane et al., 2010). La diminution de l'activité de la FAS chez les rates témoins ou obèses exposées à l'insecticide peut être due à l'effet perturbateur de l'alpha-cyperméthrine au niveau des organes.

Les dosages de quelques paramètres biochimiques tels que l'urée, la créatinine et l'acide urique peuvent refléter l'état et l'intégrité de quelques organes comme le foie et les reins.

Les valeurs de l'urée et la créatinine sont très élevées chez les rats qui ont consommé le régime contenant l'insecticide (TI, CI). Ces observations sont en accord avec ceux de Khan et al. (2012) qui rapportent que le traitement par les pyrethrinoides induit une augmentation du taux de l'urée et la créatinine. Aussi, dans une autre étude l'administration de cyperméthrine a augmenté de manière significative le taux de la créatinine plasmatique chez les animaux expérimentaux par rapport aux animaux témoins (Grewal et al, 2009). La concentration élevée de la créatinine est un marqueur du dysfonctionnement rénal. Le produit métabolique du phosphate créatinine dans le muscle est la créatinine, l'excrétion de ce produit se fait par une filtration glomérulaire et une sécrétion tubulaire (Ahmed et al., 2011). Concernant l'urée, c'est un produit de déchets azotés qui provient de la dégradation terminale des acides aminés dans le foie. Il est transporté dans le sang vers les reins où il est excrété dans l'urine. Les taux élevés de la créatinine et de l'urée dans le sang sont dû à une insuffisance rénale et la diminution de leur capacité à filtrer ces déchets dans les urines (Yousef et al., 2006). Ceci peut refléter l'action toxique du pesticide sur la fonction rénale.

L'hyperuricémie peut être un marqueur de la résistance à l'insuline, condition sous-jacente du syndrome métabolique. Dans notre étude, nous avons détecté une élévation du taux de l'acide urique chez les rates obèses sous régime contenant l'alpha-cyperméthrine, qui peut être expliqué par la résistance à l'insuline accentuée par l'effet du pesticide provoquant des altérations rénales majeures. Par contre, l'étude

d'Eraslan et al. (2008) utilisant le même insecticide n'indique aucun changement significatif du taux de l'acide urique.

Un mécanisme physiopathologique potentiel de l'hyperuricémie reliant la résistance à l'insuline et / ou l'hyperinsulinémie est une diminution de l'excrétion rénale de l'acide urique. En fait, l'insuline améliore la réabsorption tubulaire rénale du sodium et de l'urate chez l'homme, ce qui peut soutenir l'idée que l'hyperuricémie peut être une partie du syndrome de résistance à l'insuline (Pacifico et al., 2009).

Concernant les protéines totales, nous n'avons observé aucune différence significative entre les 4 lots de rates. Nos résultats sont en accord avec ceux de Chiali et al. (2013) utilisant d'autres pesticides. Par contre, l'étude de Yousef et al. (2006) montre une réduction des taux de protéines totales par les pesticides.

Il est bien connu que le mécanisme majeur de l'action des pesticides dans l'organisme est le stress oxydatif. Cet état de stress est induit lorsqu'il y a un déséquilibre entre les pro-oxydants et la défense antioxydante du corps. Les xénobiotiques ont une capacité considérable de générer des radicaux libres, ces espèces oxygénées sont très active et ont tendance à interagir avec les grandes molécules importantes du corps (les lipides, les protéines et aller même vers l'ADN). Dans ce cas, les désordres et les altérations métaboliques sont à compter et surtout s'ils touchent des personnes vulnérables et sensibles tel que les enfants, les personnes âgées et les femmes enceintes. Les modifications peuvent être dangereuses et irréversibles, qui vont dégrader la qualité de vie des personnes.

L'un des objectifs de notre travail de doctorat est d'étudier quelques paramètres du statut oxydant-antioxydant après l'exposition à l'alpha-cyperméthrine. Nos résultats montrent que les taux plasmatiques et érythrocytaires en MDA sont significativement importants chez les rates obèses et encore plus considérable chez les lots exposés à l'insecticide. De plus, on a noté une élévation significative des protéines carbonylées érythrocytaires. Le traitement par l'alpha-cyperméthrine a induit une réduction remarquable des enzymes antioxydants (catalase et SOD) avec une chute du taux érythrocytaires du glutathion considéré comme un puissant antioxydant. Cette diminution est plus marquée chez les obèses soumis au régime contenant l'insecticide. D'autre part, on n'a observé aucun changement concernant la vitamine C.

Plusieurs études précédentes démontrent que l'exposition aux pyréthrinoides produit des lésions oxydatives tissulaires chez le rat et les lapins (Youcef et al., 2003; Youcef, 2010).

D'après Shi et al. (2011), il ressort de l'exposition à la cyperméthrine un stress oxydatif chez les poissons avec production des EOA principalement les radicaux hydroxyles qui peuvent interagir avec les macromolécules et l'acide nucléique.

La peroxydation lipidique qui est l'un des résultats finaux du stress oxydatif qui se caractérise par des troubles structuraux et fonctionnels de la cellule provoqués par les radicaux libres. Ces derniers induisent l'oxydation des acides gras polyinsaturés de la membrane cellulaire (Gueraud et al., 2010). Le malondialdéhyde (MDA) qui est généré au cours de ce processus, est considéré comme un bon marqueur de la peroxydation lipidique membranaire (Valenzuela, 1991).

Les processus métaboliques au cours du développement et de la grossesse pourraient être sensibles aux changements induits par le glyphosate (un herbicide), comme la peroxydation lipidique. L'augmentation de la peroxydation lipidique au niveau du foie des rates gestantes et leurs fœtus causé par cet herbicide a accentué l'état de stress produit normalement au cours de la gestation chez les rates témoins (Beuret et al., 2005).

Benamara et al. (2011) ont observé que le méthimazole a exercé au niveau des reins des effets toxiques qui se manifestent par une augmentation du taux en MDA indice de la peroxydation lipidique chez les mères ainsi que chez leur progéniture et une diminution de l'activité des antioxydants enzymatiques (la glutathion peroxydase, GPx, la catalase, CAT et la superoxyde dismutase, SOD).

L'élévation du MDA, et la réduction des enzymes antioxydants (SOD, GPX, CAT et la GST) et des teneurs en glutathion au niveau du cerveau chez le rat pourrait être attribuée à l'effet de la cyperméthrine sur le métabolisme, considéré comme un mécanisme majeur de sa toxicité (Hussien et al., 2011). Aussi, Giray et al. (2001) ont reporté que la cyperméthrine a causé un stress oxydatif intense dans le tissu cérébral du rat, argumenté par l'élévation du taux des TBARS et la réduction du glutathion total.

En plus de la peroxydation lipidique, il y a formation d'autres intermédiaires réactifs qui peuvent également entraîner une augmentation des dommages oxydatifs à d'autres biomolécules ainsi que la formation de protéines carbonylées. Le taux du MDA et des protéines carbonylées augmentent significativement avec diminution du GSH et FRAP (ferric-reducing ability plasma) chez des femmes à risque d'accouchement prématuré, cette étude a mentionné des taux très élevés de métabolites de pesticides en faveur d'un stress oxydatif chez ces femmes (Pathak et al., 2010).

Ali (2012) a mentionné des taux élevés de protéines carbonylées au niveau du cerveau de rat traités par lambda-cyhalothrine, confirmant par ces résultats la sensibilité du tissu cérébrale au stress oxydatif. Egalement, Parvez et Raisuddin (2005) ont rapporté que le dosage des protéines carbonylées est considéré comme un biomarqueur essentiel pour l'évaluation de l'induction d'un stress oxydatif par les pesticides, leur étude a montré un taux élevé de protéines carbonylées détecté au niveau du foie, des

reins, du muscle et également le système respiratoire du poisson traité par la deltaméthrine.

Aussi, l'exposition des rats à lambda-cyhalothrine (un insecticide de la même famille), pendant 3 semaines, a provoqué une augmentation significative des taux rénaux de MDA et de protéines carbonylées (Fetoui et al., 2010).

En plus d'être un piègeur de radicaux libres directs, le GSH est le substrat de la glutathion peroxydase et la glutathion-S-transférase. Des études antérieures ont montré que le traitement par la cyperméthrine diminue les taux de GSH (Kale et al., 1999) et ont suggéré la peroxydation lipidique comme l'un des mécanismes de la toxicité chez les rats exposés à la cyperméthrine, accompagnée d'une diminution concomitante de la concentration en GSH cellulaire. Dans l'étude de Sankar et al. (2012), l'exposition à ce pesticide induit l'abaissement du taux de GSH au niveau du foie, des reins et du cerveau. Le foie est le principal organe cible et le plus sensible à la toxicité et aux dommages causés par les pesticides. Il joue un rôle majeur dans le métabolisme et la détoxification des pesticides, grâce à ses fonctions. L'hépatotoxicité continue d'être parmi les principales menaces pour la santé publique (Abdel-Tawab et al., 2015).

Les enzymes antioxydants sont considérés comme un moyen de défense principale qui protège les macromolécules biologiques contre les dommages oxydatifs.

Les activités de la superoxyde dismutase (SOD) et de la catalase sont réduites de manière significative chez les rats traités par la cyperméthrine en comparaison au groupe témoin (Abdou et al., 2012). L'épuisement des enzymes antioxydants peut être due à la génération des EOA par l'insecticide, et la diminution des substrats d'enzymes et / ou la régulation négative des processus de la transcription et de la traduction (Muthuviveganandavel et al., 2008). Plusieurs études précédentes rapportent que cet insecticide provoque une diminution des activités d'enzymes antioxydants (Youcef et al., 2003).

Sakr et Al-Amoudi (2012) ont également rapporté que des dommages tissulaires rénaux sont observés suite à l'exposition à la deltaméthrine entraînés par l'augmentation de la peroxydation lipidique et la diminution des enzymes antioxydantes dans les reins. Ces résultats sont confirmés par l'examen histologique des reins qui montrent de nombreuses modifications tissulaires. Aussi, l'exposition à la cyperméthrine induit une augmentation significative du MDA au niveau du cerveau, du foie et des reins des poissons (Kumar et al., 2012).

La deltaméthrine a provoqué une augmentation de l'activité des transaminases ainsi que le taux de MDA chez le rat (Chargui et al., 2012). Il a été démontré que le traitement par ce même insecticide induit une dégénérescence hépatorénale chez le

poisson démontrée par un taux important des transaminases AST et ALT, d'urée et de créatinine et d'autre part une augmentation du MDA au niveau du foie et des reins accompagnée d'une réduction de l'activité de la catalase (Amin et Hashem, 2012). Ces altérations peuvent être différentes selon le temps d'exposition et la dose. Ces lésions tissulaires peuvent être attribuées au stress oxydatif résultant de la production accrue de radicaux libres (Abdel-Daim et al., 2013).

Le stress oxydatif réduit l'activité des canaux sodiques ATP-dépendants (Chinopoulos et al., 2000). Dans des parasites comme la paramécie *tetraurelia*, les pyréthroides augmentent la concentration intracellulaire des ions Calcium (Symington et al., 1999) ; ceci est expliqué par les déficits d'énergie qui provoquent l'incapacité des cellules à éliminer Ca^{2+} cytosolique (Reddy et al., 1991). L'augmentation des ions Ca^{2+} cytosolique provoquent des dommages cellulaires avec une cytotoxicité induite par les radicaux libres (Kadous et al., 1994).

Les pyréthrinoides sont métabolisés dans le foie par les voies oxydatives du cytochrome P450 produisant des espèces réactives de l'oxygène (Klimek, 1990). Cet état de stress oxydatif induit la production de l'oxygène moléculaire, ce qui entraîne la production de superoxyde en excès dans la plupart des tissus (Andreyev et al., 2005). Ces anions superoxydes sont convertis en peroxyde d'hydrogène et de l'eau à l'aide de la SOD (Fridovich, 1995). Une baisse significative des niveaux de SOD érythrocytaire indique une diminution de la capacité des tissus à neutraliser les radicaux libres excessifs.

La diminution significative des taux de GSH peut être attribuée à l'inhibition de la synthèse du GSH ou à son utilisation accrue pour l'élimination des produits toxiques qui génèrent des radicaux libres (Singh et al., 2001). Ces radicaux libres peuvent attaquer le groupe thiol du résidu cystéine et les acides gras polyinsaturés des membranes biologiques (Chow et Tappel, 1972). La peroxydation des lipides induite par les EOA provoque la dégradation des membranes biologiques (Sen et al., 2006).

La détermination de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALT) et l'aspartate aminotransférase (AST) représente l'état fonctionnel du foie. Dans notre étude, nous avons noté une augmentation des taux plasmatiques de l'AST, ALT et la phosphatase alcaline (ALP) chez les rates exposées à l'insecticide, avec accentuation du trouble chez les rates obèses traitées. Des études précédentes démontrent que cette augmentation des transaminases est probablement due aux changements pathologiques induits par le même insecticide, provoquant des dommages hépatiques (Grewal et al., 2009).

Il a été démontré que l'ALT est corrélée aux troubles métaboliques observés lors du surpoids et de l'obésité tels que la dyslipidémie et la résistance à l'insuline (Fan et al.,

2011). L'activité de cette enzyme est remarquablement élevée chez les personnes ayant une stéatose hépatique due à l'obésité, la dyslipidémie, l'augmentation de l'IMC, et des troubles hépatiques associées au diabète sucré (Das et al., 2010).

Burgert et ses collaborateurs (2006) ont observé que les altérations de la tolérance au glucose et du métabolisme des lipides sont associées à une élévation de l'ALT chez les jeunes obèses. Aussi, il a été démontré que cette élévation même si elle est faible, est en corrélation avec l'accumulation de graisse au niveau de foie (Tiikkainen et al., 2003). Étant donné que le foie joue un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie du glucose et des lipides, la détérioration du métabolisme de glucose et de l'insuline pourrait émerger en fonction de l'augmentation d'ALT et de l'accumulation de graisse hépatique (Burgert et al., 2006).

En outre, l'augmentation des activités de l'ALP et de LDH indique les dommages des différents organes tels que les poumons, le cœur et les reins (Hoffmann et al., 1999).

Diverses études ont révélé une augmentation des activités sériques des enzymes ALT et AST chez des animaux traités par la cyperméthrine (Ahmad et al., 2011). Aussi, Khan et ses collaborateurs (2012) notent une augmentation du taux sérique d'ALT et AST chez des rates femelles, mais une diminution chez les rats mâles dont la dose et la durée de l'exposition aux pyréthrinoides est la même que celles des femelles. Ce résultat peut être attribué à l'influence des hormones sexuelles sur l'activité de ces enzymes.

L'ALT et l'AST sont des enzymes tissulaires; l'ALT est localisée principalement dans le foie, tandis que l'AST est présente dans de multiples tissus comme le cœur, le muscle, les reins, le cerveau et le foie (Friedman et al., 2003). Leurs taux sériques élevés indiquent la présence de dommages cellulaires aux niveaux de ces organes. En outre, Palanivelu et al. (2005) ont suggéré que le foie est riche en AST et ALT, et son endommagement peut aboutir à la libération de grandes quantités de ces enzymes dans le sang. Par conséquent, une augmentation de l'activité de ces enzymes après l'exposition à des polluants est un indicateur sensible de dommages cellulaires (Palanivelu et al., 2005; Alkahem Al-Balawi et al., 2011). La hausse des taux d'AST et d'ALT sériques a été attribuée à la dégradation de l'intégrité structurale du foie, parce que ce sont des enzymes cytoplasmiques et sont misent en circulation après les dommages cellulaires (Jothi et al., 2012). La cyfluthrine (insecticide de la famille des pyréthrinoides) a provoqué les mêmes altérations (Priyanka et al., 2012).

L'étude d'Abdou et al. (2012) a démontré que le traitement avec la cyperméthrine a provoqué une baisse importante dans les activités intracellulaires des enzymes hépatiques (AST, ALT, LDH). Par contre, l'activité plasmatique de ces enzymes était élevée confirmant les dommages histologiques au niveau du foie.

Il peut être conclu que les dommages oxydatifs peuvent être la principale cause de la toxicité de la cyperméthrine conduisant à la peroxydation des lipides et des dommages cellulaires. Ainsi, le changement évident dans les fonctions hépatiques et rénales est lié à l'intensité des dommages cellulaires. Il a été démontré que le métabolisme de la cyperméthrine se fait dans le foie par des voies oxydatives et produisant des niveaux élevés de MDA qui se traduisent par une nécrose hépatique (Manna et al., 2004).

L'ALP est une enzyme membranaire, se trouvant en plus fortes concentrations dans le foie, l'épithélium des voies biliaires, de l'os et la muqueuse intestinale. Elle est responsable de la dégradation des esters de phosphate et est utilisée comme indicateur de l'état des voies d'absorption et de transport dans la membrane cellulaire (Ravel, 1995). Elle est impliquée dans le transport de métabolites à travers les membranes : dans l'intestin, elle contrôle l'homéostasie et la flore intestinale, dans le foie elle permet la formation de bile en contrôlant la fonction biliaire (Poupon, 2015). Le taux sérique d'ALP augmente en cas de dommages cellulaires hépatiques et d'obstruction des voies biliaires par la prolifération des cellules hépatiques (El-Demerdash et al., 2003). L'augmentation de l'activité d'ALP a été mentionnée chez divers animaux traités par la cyperméthrine (Yousef et al., 2006). La diminution de son activité est considérée comme un indice de dommages parenchymateux (Anwar, 2003).

Des résultats montrent aussi une augmentation de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline dans le plasma des rats recevant le pesticide méthomyl. Rahman et al. (2000) ont proposé que la diminution des activités de l'ALP et de l'acide phosphatase (AcP) dans les différents tissus peut être due à l'augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique ou à la nécrose cellulaire, montrant l'état d'un stress oxydant chez les animaux traités. En outre, ils ont rapporté que l'augmentation de leurs activités dans le sérum peut être due à une nécrose tissulaire. D'autres études ont aussi montré l'augmentation de l'activité de ALP suite à l'exposition aux insecticides carbamates, comme le carbofuran (Brkić et al., 2008) et le carbaryl (Eraslan et al., 2009). Turki et ses collaborateurs (2013) rapportent que le traitement par la cyperméthrine diminue l'activité des enzymes (AST, ALT et ALP) au niveau des testicules de rats, et augmentent le taux de LDH. Plusieurs études ont montré que les activités transaminases sont augmentées chez les humains et les animaux après l'exposition aux pesticides (Mossa et Abbassy, 2012).

Le Foie joue un rôle important dans le métabolisme et le maintien du niveau d'énergie et la stabilité structurale du corps (Guyton et Hall, 1996). C'est le site principal de détoxification et d'excrétion. Il est généralement sujet à divers troubles induit par l'exposition aux toxines extrinsèques et intrinsèques comme les produits chimiques, les médicaments, les métaux lourds, les cellules mortes, les micro-organismes et

autres débris et particules ayant des effets toxiques (Fulzele et al., 2012). Il est également considéré comme un lieu de la biotransformation, dans le quel un composé toxique est transformé en métabolites moins nocifs pour réduire sa toxicité (Hodgson, 2004). Cependant, un excès de produits toxiques peut endommager les cellules du foie et produire l'hépatotoxicité.

Il y a de plus en plus de preuves que l'exposition aux pesticides, pendant la gestation, peut entraîner des dommages et affecter l'état de santé de la descendance (Wohlfahrt-Weje et al., 2011). Même à des niveaux d'exposition relativement faibles, les pyréthroides pourraient entraîner des perturbations du système endocrinien, la suppression du système immunitaire, et la carcinogenèse (Li et al., 2014). Il faut noter que de nombreux produits chimiques peuvent être transférés de la mère à l'enfant à travers le placenta et par le lait maternel (Aylward et al., 2014). L'exposition fœtale ou des enfants aux pesticides peut conduire à des mutations de gènes dans des cellules embryonnaires ou somatiques, contribuant par la suite à l'apparition des tumeurs cérébrale chez l'enfant (Connelly et Malkin, 2007).

Les pyréthrinoides sont métabolisés par les estérases dans le corps humain, et les métabolites sont excrétés dans l'urine avec une demi-vie de 4-13 h (Leng et Gries, 2005). La détection des métabolites de pyréthrinoides dans l'urine se fait par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), révélée comme un moyen fiable pour évaluer les niveaux d'exposition aux pyréthrinoides chez les individus (Leng et Gries, 2005).

Les pesticides organochlorés (OC) et d'autres composés persistants tels que les biphényles polychlorés (BPC) et polybromés éthers diphényliques (PBED) ont été détectés dans le liquide amniotique. Vu leur caractère lipophile, ils se lient aux lipides sériques (Miller et al., 2012). L'étude de Bossi et al. (2013) a révélé que la cyperméthrine est retrouvée à des concentrations détectables dans le liquide amniotique (4,9 à 33,3 ng / mL). Les rapports entre la cyperméthrine et de son métabolite 3-PBA étaient de 0,12 à 0,18. La cyperméthrine est connue pour être métabolisé rapidement et principalement excrétée dans l'urine sous forme de métabolites polaires (Crawford et al., 1981a). Cela a été confirmé par les niveaux élevés de 3-PBA détectés dans l'urine maternelle (463-3,880 ng / mL). En raison de son caractère lipophile, une partie est retenue par le tissu adipeux (Crawford et al., 1981b). Une autre partie peut être libérée dans la circulation sanguine maternelle et pénètre dans l'environnement fœtal (Miller et al., 2012). D'autres pyréthrinoides (cis- et trans-perméthrine) ont été détectés à des niveaux très faibles dans le sérum du cordon ombilical et maternel chez des femmes enceintes, ce qui suggère que certains pyréthrinoides non métabolisés peuvent également atteindre le compartiment fœtal

(Yan et al., 2009). Pour voire l'exposition aux pyréthrinoides, l'analyse des métabolites au niveau des urines a été menée sur 161 enfants; les résultats montrent que ces métabolites sont positivement associés au risque de tumeurs cérébrales de l'enfant (Chen et al., 2016). De plus, des métabolites de pyréthrinoides ont été détectés dans l'urine des adultes, des enfants et des femmes enceintes (Qi et al., 2012). L'accumulation de la cypérméthrine et de ses métabolites au niveau du tissu adipeux, du cerveau et du foie a été rapportée précédemment chez le rat (Okuno et al., 1986). L'alpha-cyperméthrine est accumulée dans les tissus adipeux à des concentrations allant jusqu'à 9,8µg / g de tissu, alors que son contenu (par ordre décroissant) étaient beaucoup plus faibles dans les reins, le foie et le cerveau (Hongsibsonga et al., 2014). Des auteurs ont proposé que des concentrations plus élevées et plus persistantes des pesticides dans les tissus adipeux peut être due à leur métabolisme plus lent et le manque d'enzymes nécessaires à l'hydrolyse des pyréthrinoides (Marei et al., 1982). La toxicité maternelle peut donc entraîner celle du fœtus et du nouveau-né. Cette toxicité peut perdurer après la naissance, chez les jeunes enfants. Les enfants sont plus sensibles aux effets cancérogènes des pesticides que les adultes. Leur sensibilité accrue est attribuée à la division cellulaire rapide pendant la croissance (Greenop et al., 2013), et à l'immaturité de la fonction enzymatique de la désintoxication (Oulhote et Bouchard, 2013). De plus, le lait maternel riche en lipides peut accumuler les différents contaminants lipophiles, ces composés peuvent être transférés pendant l'allaitement, aboutissant à la transmission des contaminants trans-générationnel (Munoz-de-Toro et al., 2006). Ainsi, l'exposition aux pesticides est dangereuse pour la mère, mais aussi pour sa descendance.

CONCLUSION

L'application des pesticides dans le cadre de la lutte intégrée est le plus souvent indispensable pour assurer une production abondante, régulière et de qualité. Néanmoins, leur utilisation professionnelle et domestique soulève de nombreuses interrogations quant aux conséquences délétères qu'ils pourraient avoir sur la santé de l'être humain. Plusieurs études démontrent que l'utilisation de pesticides peut être à l'origine de plusieurs pathologies dont les malformations congénitales, les problèmes d'infertilité, les problèmes neurologiques ou encore l'altération du système immunitaire et divers cancers. De plus, vu le problème de l'accumulation des pesticides dans l'organisme, certains d'entre eux peuvent être impliqués dans l'apparition de l'obésité et du diabète de type 2.

Si les effets des intoxications aiguës sont assez bien connus, les conséquences à long terme, suite à des expositions chroniques et à faible dose, et pendant des périodes critiques de la vie telles que la conception ou la préconception, le sont beaucoup moins.

Ma thèse de doctorat entre dans le contexte de l'analyse du risque constitué par l'exposition à un insecticide, l'alpha-cyperméthrine de la famille des pyréthrinoides à faible dose (DJA; 0,02mg/kg/jour), en examinant les désordres métaboliques et le déséquilibre du statut oxydant/antioxydant pendant la grossesse et en présence de l'obésité.

Pour réaliser ce travail, nous avons utilisé comme modèle expérimental *in vivo* la rate wistar gestante. Pour l'induction de l'obésité expérimentale, nous avons utilisé le régime cafeteria, un régime hypercalorique et hyperlipidique qui favorise l'installation de l'obésité et de ses complications. L'alpha-cyperméthrine est utilisée à des concentrations faibles. La plupart des études ultérieures utilisent des doses relativement fortes et les effets à faibles doses restent méconnus, ce qui marque l'originalité de ce travail de doctorat.

Nos résultats montrent que l'exposition à l'alpha-cyperméthrine induit une augmentation du poids corporel associée à une élévation du poids du tissu adipeux et de son enrichissement en triglycérides, une hyperglycémie et une hyperlipidémie. Ces anomalies sont plus accentuées chez les rates obèses. L'augmentation des triglycérides est observée au niveau de tous les organes étudiés (foie, tissu adipeux, muscle, cerveau et reins), reflétant une distribution anormale des lipides. D'autre part, les atteintes hépatiques et rénales induites par l'insecticide sont justifiées par la hausse des taux sériques de la créatinine, l'urée et l'acide urique, et des transaminases.

En plus des altérations biochimiques induites par l'exposition à l'insecticide, les activités enzymatiques sont aussi affectées. L'activité de la lipase LHS est augmentée chez les rates obèses mais l'exposition à l'insecticide induit une diminution significative de son activité notamment chez les rates obèses traitées par l'alpha-cyperméthrine. Les activités de la LPL hépatique et celle du tissu adipeux sont élevées chez les rates obèses exposées à l'insecticide. L'activité de l'enzyme adipocytaire FAS est augmentée par l'obésité mais diminuée significativement par l'alpha-cyperméthrine.

Les altérations du statut oxydant/antioxydant sont provoquées par le régime cafeteria et sont majorées par l'effet de l'insecticide, prouvant l'existence d'un stress oxydatif. Une augmentation plasmatique, érythrocytaire et tissulaire des taux de malondialdéhyde (MDA) et des protéines carbonylées est notée, accompagnée par une réduction parallèle de l'activité de l'enzyme catalase et superoxyde dismutase (SOD) et du taux de glutathion réduit (GSH) sériques et tissulaires. Par contre, les teneurs sériques en vitamine C sont maintenues normales.

Nos résultats permettent d'affirmer la toxicité de l'insecticide alpha-cyperméthrine à faibles doses chez la rate gestante, et spécifiquement chez la rate gestante obèse. Cette aggravation de la toxicité est liée à l'excès du tissu adipeux présent dans l'obésité sachant que l'alpha-cyperméthrine s'accumule facilement dans les dépôts de graisse. Cependant, la démonstration d'un lien de causalité entre l'exposition aux pesticides et la présence d'un impact sur la santé chez l'homme pourrait être apportée par des études comparatives entre des populations ayant une alimentation conventionnelle et biologique et des populations exposées.

Les doses peuvent être minimales et prises séparément, elles peuvent être sans effet. Prises de manière prolongée, elles peuvent s'accumuler dans l'organisme (toxicité cumulative) dans certains organes particuliers et atteindre des niveaux toxiques. Un tel risque doit particulièrement retenir l'attention en ce qui concerne les populations exposées (manufacturiers et applicateurs) et les consommateurs (résidus dans les aliments). De plus, au cours de la grossesse, le risque existe chez la mère mais aussi chez son nouveau-né. La toxicité peut affecter le développement fœtal mais aussi peut avoir des conséquences à long terme. La non utilisation des insecticides ou la modération dans leur utilisation est fortement recommandée au cours de la grossesse, et particulièrement au cours des grossesses associées à l'obésité maternelle.

Perspectives

Les perspectives envisageables en prolongement direct de cette thèse concernent 5 objectifs importants:

- * Détermination des effets combinés de l'alpha-cyperméthrine avec d'autres molécules et d'autres familles de pesticides sur le métabolisme en général, afin de se rapprocher au maximum de l'exposition et la consommation alimentaire humaine.
- * Suivi de ces pesticides dans l'organisme et recherche de leurs voies de distribution et d'élimination.
- * Réalisation de l'étude tissulaire notamment histologique afin de voir les modifications qui peuvent se produire au niveau de la structure tissulaire et leurs impacts sur les fonctions physiologiques des différents organes.
- * Etude des mécanismes d'action de ces molécules au niveau de l'organisme en déterminant les cibles moléculaires affectées.
- * Suivi de la progéniture des rates exposées aux insecticides, pour voir si les différentes perturbations métaboliques peuvent aboutir à des pathologies à l'âge adulte, noter la chronologie de leur apparition.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-A-

Abdel-Daim MM, Abuzead SMM, Halawa SM (2013). Protective Role of *Spirulina platensis* against Acute Deltamethrin-Induced Toxicity in Rats. PLoS ONE 8(9): e72991. 1-7. doi:10.1371/journal.pone.0072991.

Abdel-Rahim EA, Abdel-Rahim GA, Fayed SA, Ghada IM (2009). Antioxidant diet as protective agents against biochemical perturbation effects induced by cypermethrin on lipids and protein fractions as well as kidneys function of blood rat. Aust J Basic Appl Sci 3: 267-276.

Abdeltawab M, Ibrahim FM, Mohafrash SMM, El Gengaihi S (2015). Protective Effect of Ethanolic Extract of Grape Pomace against the Adverse Effects of Cypermethrin on Weanling Female Rats. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine (10): 10.

Abdou HM, Hussien HM, Yousef MI (2012). Deleterious effects of cypermethrin on rat liver and kidney: Protective role of sesame oil. Journal of Environmental Science and Health, Part B 47 (4): 306-314.

Abou El-Magd SA, Sabik LME, Shoukry A (2011). Pyrethroid toxic effects on some hormonal profile and biochemical markers among workers in pyrethroid insecticides company. Life Science Journal 8(1): 311-322.

Aebi H (1974). Catalase, Methods of enzymatic analysis, in: H.U. Bergmeyer (Eds.), second ed., vol. 2, Verlag Chemie, Weinheim 673-684.

Agheli N, Kabir M, Berni-Canani S, Petitjean E, Boussairi A, Luo J (1998). Plasma lipids and fatty acid synthase activity are regulated by short-chain fructooligosaccharides in sucrose-fed insulin-resistant rats. J Nutr 128: 1283-1288.

Ahmad L, Khan A, Khan MZ (2011). Cypermethrin induced biochemical and hepatorenal pathological changes in rabbits. Int J Agric Biol 13: 865-872.

Aldana L, Tsutsumi V, Craigmill A, Silveira MI, Gonzalez de Mejia, E (2001). α -Tocopherol modulates liver toxicity of the pyrethroid cypermethrin. Toxicol Lett 125: 107-116.

Ali ZY (2012). Neurotoxic effect of lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroid pesticide: involvement of oxidative stress and protective role of antioxidant mixture. *New York Science Journal* 5(9): 93-103.

Alkahem Al-Balawi HF, Ahmad Z, Al-Akel AS, Al-Misned F, Suliman EM, Al-Ghanim KA (2011). Toxicity bioassay of lead acetate and effects of its sub-lethal exposure on growth, haematological parameters and reproduction in *Clarias gariepinus*. *Afr J Biotech* 10: 11039-11047.

Amara A (2012). Evaluation de la toxicité de pesticides sur quatre niveaux trophiques marins : microalgues, échinoderme, bivalves et poisson. *Agricultural sciences*. Université de Bretagne occidentale - Brest.

Amin KA, Hashem KS (2012). Deltamethrin-induced oxidative stress and biochemical changes in tissues and blood of catfish (*Clarias gariepinus*): antioxidant defense and role of alpha-tocopherol. *BMC Vet Res* 8: 45.

Anadon A, Martinez-Larranaga M, Fernandez-Cruz M (1996). Toxicokinetics of deltamethrin and its 4'-OH- metabolite in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology* 141 : 8-16.

Andreyev AY, Kushnareva YE, Starkov AA (2005). Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Biochemistry (Mosc)* 70: 200-214.

Anwar K (2003). Cypermethrin, a pyrethroid insecticide induces teratological and biochemical changes in young chick embryos. *Pakistan J Biol Sci* 6: 1698-1705.

Anway MD, Skinner MK (2006). Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors. *Endocrinology* 147: 43-49.

Apra C, Stridori A, Sciarra G (1997). Analytical method for the determination of urinary 3-phenoxybenzoic acid in subjects occupationally exposed to pyrethroid insecticides. *J Chromatogr B Biomed Appl* 695: 227-236.

Aroonvilairat S, Kespichayawattana W, Sornprachum T, Chaisuriya P, Siwadune T, Ratanabanangkoon K (2015). Effect of Pesticide Exposure on Immunological,

Hematological and Biochemical Parameters in Thai Orchid Farmers- A Cross-Sectional Study. *Int J Environ Res Public Health* 12: 5846-5861.

Aubertot JN, Barbier JM, Carpentier A, Gril JJ, Guichard L, Lucas P, Savary S, Savini I, Voltz M (2005). Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Rapport d'Expertise scientifique collective, INRA et Cemagref (France) p64.

Aylward LL, Hays SM, Kirman CR, Marchitti SA, Kenneke JF, English C, Mattison DR, Becker RA (2014). Relationships of chemical concentrations in maternal and cord blood: a review of available data. *J Toxicol Environ Heal B* 17(3): 175-203.

-B-

Baconi DL, Bârcă M, Manda G, Ciobanu AM, Bălălaşu C (2013). Investigation of the toxicity of some organophosphorus pesticides in a repeated dose study in rats. *Rom J Morphol Embryol* 54(2): 349-356.

Baldi I, Cordier S, Coumoul X, Elbaz A, Gamet-Payrastré L, Le Bailly P, Multigner L, Rahmani R, Spinosi J, Maele-Fabry GV (2013). Pesticides-Effets sur la santé : Expertise collective. Editions Inserm. p1001. ISBN 978-2-85598-905-1.

Benamara I, Troudi A, Garoui E, Hakim A, Boudawara T, Zeghal KM, Zeghal N (2011). Protective effects of selenium on methimazole nephrotoxicity in adult rats and their offspring. *Experimental and Toxicologic Pathology* 63 (6): 553-561.

Benkalfat NB, Merzouk H, Bouanane S, Merzouk SA, Bellenger J, Gresti J, Tessier C, Narce M (2011). Altered adipose tissue metabolism in offspring of dietary obese rat dams. *Clinical Science* 121: 19-28.

Ben Slima A, Chtourou Y, Barkallah M, H Fetoui, T Boudawara, R Gdoura (2016). Endocrine disrupting potential and reproductive dysfunction in male mice exposed to deltamethrin. *Human and Experimental Toxicology* 1-9.

Bessesen DH, Robertson AD, Eckel RH (1991). Weight reduction increases adipose but decreases carDiabetesc LPL in reduced-obese Zucker rats. *Am J Physiol* 261: 246-251.

Beuret CJ, Zirulnik F, Giménez MS (2005). Effect of the herbicide glyphosate on liver lipoperoxidation in pregnant rats and their fetuses. *Reprod Toxicol* 19(4): 501-504.

Bhanu AP, Deepak M (2015). Impact of cypermethrin on biochemical aspects of clinical importance in the blood of freshwater fish *Cyprinus carpio*. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 3 (1): 126-128.

Bhatti G K, Sidhu IP S, Saini N K, Puar S K, Singh G, Bhatti J S (2014). Ameliorative role of melatonin against cypermethrin induced hepatotoxicity and impaired antioxidant defense system in Wistar rats. *Journal Of Environmental Science* 8 (1): 39-48.

Bioletto S, Golay A, Munger R, Kalix B, James RW (2000). Acute hyperinsulinemia and very low density and low density lipoprotein subfractions in obese subjects. *Am J Clin Nutr* 71: 443-449.

Bloomquist JR (1996). Ion Channels as Targets for Insecticides. *Ann Rev Entomol* 41: 163-190.

Boland J, Koomen I, Lidth de Jeude JV, Oudejans J (2004). Les pesticides : composition, utilisation et risques. *Agrodok* 29 p124.

Bonvallot N (2014). Application de la Métabolomique à l'étude du lien entre les expositions environnementales aux pesticides pendant la grossesse et le développement de l'enfant: Approches épidémiologique et toxicologique. Université de Toulouse.

Bossi R, Vinggaard AM, Taxvig C, Boberg J, Bonefeld-Jørgensen EC (2013). Levels of pesticides and their metabolites in Wistar rat amniotic fluids and maternal urine upon gestational exposure. *Int J Environ Res Public Health* 10: 2271-2281.

Bouanane S, Benkalfat NB, Baba Ahmed FZ, Merzouk H, Soulimane Mokhtari N, Merzouk S, Gresti J, Tessier C, Narce M (2009). Time course of changes in serum oxidant/antioxidant status in cafeteria fed obese rats and their offspring. *Clin Sci* 116: 669-680.

Bouanane S, Merzouk H, Benkalfat NB, Soulimane N, Merzouk SA, Gresti J, Tessier C, Narce M (2010). Hepatic and very low-density lipoprotein fatty acids in obese offspring of overfed dams. *Metabolism Clinical and Experimental* 59: 1701-1709.

Bradman A, Barr DB, Claus Henn BG, Drumheller T, Curry C, Eskenazi B (2003). Measurement of pesticides and other toxicants in amniotic fluid as a potential biomarker of prenatal exposure: A validation study. *Environ Health Perspect* 111: 1779-1782.

Bradman A, Schwartz JM, Fenster L, Barr DB, Holland NT, Eskenazi B (2007). Factors predicting organochlorine pesticide levels in pregnant Latina women living in United States agricultural area. *J Exp Sci Environ Epidemiol* 17: 388-399.

Brkić VD, Vitorović SL, Gašić SM, Nešković NK (2008). Carbofuran in water: Subchronic toxicity to rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 25: 334-341.

Burg MB (1995). Molecular basis of osmotic regulation. *Am J Physiol* 268 : 983-996.

Burgert TS, Taksali SE, Dziura J, Goodman TR, Yeckel CW, Papademetris X, Constable RT, Weiss R, Tamborlane RW, Savoye M, Seyal AA, Caprio S (2006). Alanine Aminotransferase Levels and Fatty Liver in Childhood Obesity: Associations with Insulin Resistance, Adiponectin, and Visceral Fat. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 91(11): 4287-4294.

-C-

Carriquiriborde P, Diaz J, Mugni H, Bonetto C, Ronco AE (2007). Impact of cypermethrin on stream fish populations under field-use in biotech-soybean production. *Chemosphere* 68: 613-621.

Casida JE (2010). Chapter 2. Pest toxicology: the primary mechanisms of pesticide action. In: *Handbook of pesticide toxicology*. Third edition. Robert Krieger 103-117.

Chargui I, Grissa I, Bensassi F, Hrira MY, Haouem S, Haouas Z, Bencheikh H (2012). Oxidative stress, biochemical and histopathological alterations in the liver and kidney of female rats exposed to low doses of deltamethrin (DM): a molecular assessment. *Biomed Environ Sci* 25: 672-683.

Chen S, Gu S, Wang Y, Yao Y, Wang G, Jin Y, Wu Y (2016). Exposure to pyrethroid pesticides and the risk of childhood brain tumors in East China. *Environmental Pollution* 218: 1128-1134.

Chiali FZ, Merzouk H, Merzouk SA, Medjdoub A, Narce M (2013). Chronic low level metribuzin exposure induces metabolic alterations in rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 106: 38-44.

Chinopoulos C, Tretter L, Rozsa A, Adam-Vizi V (2000). Exacerbated responses to oxidative stress by an Na⁺ load in isolated nerve terminals: the role of ATP depletion and rise of [Ca²⁺]. *J Neurosci* 20: 2094-2103.

Chow CK, Tappel AL (1972). An enzymatic protective mechanism against lipid peroxidation damage to lungs of ozone-exposed rats. *Lipids* 7: 518-524.

Cluzeau S, Patunelle MC, Lhoutellier C (2000). Index phytosanitaire. Association de coordination technique agricole, ACTA, Paris p 644.

Cnop M (2008). Fatty acids and glucolipototoxicity in the pathogenesis of Type 2 diabetes. *Biochem Soc Trans* 36: 348-352.

Codex alimentarius commission (2003). Rapport de la quatorzième session du comité du codex sur les résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments arlington, Virginie (Etats-unis), Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires p 56.

Connelly JM, Malkin MG (2007). Environmental risk factors for brain tumors. *Curr Neurol Neurosci Rep* 7: 208-214.

CPP (Comité de la prévention et de la précaution) (2002). Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. Ministère de l'écologie et du développement durable. Rapport p 47.

Crawford MJ, Croucher A, Hutson DH (1981a). The metabolism of the pyrethroid insecticide cypermethrin in rats; Excreted metabolites. *Pestic Sci* 12: 399-411.

Crawford MJ, Croucher A, Hutson DH (1981b). Metabolism of cis- and trans-cypermethrin in rats. Balance and tissue retention study. *J Agric Food Chem* 29: 130-135.

-D-

Dalmas E, Clément K, Guerre-Millo M (2011). Defining macrophage phenotype and function in adipose tissue. *Trends Immunol* 32(7): 307-314.

Darimont C, Turini M, Epitoux M, Zbinden I, Richelle M, Montell E (2004). β -Adrenoceptor agonist prevents alterations of muscle diacylglycerol and adipose tissue phospholipids induced by a cafeteria diet. *Nutr Metab* 1: 4-13.

Das K, Das K, Mukherjee PS, Ghosh A, Ghosh S, Mridha AR, Dhibar T, Bhattacharya B, Bhattacharya D, Manna B, Dhali GK, Santra A, Chowdhury A (2010). Nonobese population in a developing country has a high prevalence of nonalcoholic fatty liver and significant liver disease. *Hepatology* 51(5): 1593-1602.

Dawar FU, Zuberi A, Azizullah A, Khattak MNK (2016). Effects of cypermethrin on survival, morphological and biochemical aspects of rohu (*Labeo rohita*) during early development. *Chemosphere* 144: 697-705.

Dejager S, Turpin G (1996). Hyperlipidémie au cours de la grossesse. *Presse Med* 25(37):1839-1845.

Delorme R (2002). Les insecticides systémiques en protection des plantes. In : AFSSA (Ed.). Analyse des phénomènes d'affaiblissement des colonies d'abeilles. Paris 64-68.

Deng Y, Scherer PE (2010). Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 1212 : 1-19.

Derache R (1986). Toxicologie et sécurité des aliments. Technique et documentation, Lavoisier Paris 299-321.

Dorman DC, Allen SL, Byczkowski JZ, Claudio L, Fisher JE Jr, Fisher JW, Harry GJ, Li AA, Makris SL, Padilla S, Sultatos LG, Mileson BE (2001). Methods to identify and characterize developmental neurotoxicity for human health risk

assessment: III. Pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations. *Environ Health Perspect* 109 (1): 101-111.

Dourmashkin JT, Chang GQ, Gayles EC, Hill JO, Fried SK, Julien C, Leibowitz SF (2005). Different forms of obesity as a function of diet composition. *Int J Obes* 29: 1368-1378.

Draper H, Hadley M (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 186:421-431.

Dubus E, Barriuso R, Calvet J (2001). Sorption of weak organic acids in soil : clofenncet, 2,4-D and salicylic acid. *Chemosphere* 45: 767-774.

-E-

Eckel RH, Yost TJ (1987). Weight reduction increases adipose tissue lipoprotein lipase responsiveness in obese women. *J Clin Invest* 80: 992-997.

Ekinci D, Beydemir S (2009). Evaluation of the impacts of antibiotic drugs on PON1: A major bioscavenger against cardiovascular diseases. *Eur J Pharmacol* 617: 84-89.

El-Baz MAH, El-Deek SEM, Nsar AY, El-Maali EA, Abdel Hafez FF, Amin AF (2015). Prenatal Pesticide Exposure: Meconium as a Biomarker and Impact on Fetal Weight. *J Environ Anal Toxicol* 5(3): 268. doi: 10.4172/2161-0525.1000268.

Eldeeb R, Shantakumari N, Gamal-Eldin MH, Khowailed EA, Fathy MM (2013). The response of lipolytic activity in adipose tissue to saturated fat. *IOSR J Pharm* 3: 35-40.

El-Demerdash FM, Yousef MI, Al-Salhen KS (2003). Protective effects of isoflavone on some biochemical parameters affected by cypermethrin in male rabbits. *J Environ Sci Health B* 38: 365-378.

Ellman G (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 82: 70-77.

Elsharkawy EE, Yahia D, El-Nisr NA (2013). Sub-chronic exposure to chlorpyrifos induces hematological, metabolic disorders and oxidative stress in rat: attenuation by glutathione. *Environ Toxicol Pharmacol* 35(2): 218-227.

Elstner EF, Youngman RJ, Obwadi W (1983). Superoxide dismutase. In: Methods of Enzymatic Analysis, 3rd ed, vol. 3, H.U. Bergmeyer (Eds.), Verlag Chemie, Weinheim 293-302.

Eraslan G, Kanbur M, Silici S, Altinordulu S, Karabacak M (2008). Effects of cypermethrin on some biochemical changes in rats: the protective role of propolis. *Exp Anim* 57: 453-460.

Eraslan G, Kanbur M, Silici S (2009). Effect of carbaryl on some biochemical changes in rats: The ameliorative effect of bee pollen. *Food and Chemical Toxicology* 47: 86-91.

Eskenazi B, Rosas LG, Marks AR, Bradman A, Harley K, Holland N, Johnson C, Fenster L, Barr DB (2008). Pesticide toxicity and the developing brain. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 102: 228-236.

-F-

Fan X, Chen SK, Tang Q, Luo JS, Feng Y (2011). Relationship between alanine aminotransferase and overweight or obesity in children. *Chin J Contem Pediatr* 13 (12): 951-954.

FAO (2016). Evaluation of certain veterinary drug residues in food. Eighty-first report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *World Health Organ Tech Rep Ser* 997: 1-11.

Fetoui H, Garoui el M, Zeghal N (2009). Lambda-cyhalothrin-induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats: ameliorative effect of ascorbic acid. *Exp Toxicol Pathol* 61(3): 189-196.

Fetoui H, Makni M, Garoui E, Zeghal N (2010). Toxic effects of lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroid pesticide, on the rat kidney: Involvement of oxidative stress and protective role of ascorbic acid. *Experimental and Toxicologic Pathology* 62: 593-599.

Fridovich I (1995). Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem* 64: 97-112.

Friedman SF, Martin P, Munoz JS (2003). Laboratory evaluation of the patient with liver disease. *Hepatology, a textbook of liver disease*. Philadelphia Saunders publication 1: 661-709.

Fulzele VB, Shedage A, Anton Smith A, Gaikwad TV, Kirtane SR (2012). Comparative hepatoprotective activity of Liv-52 and Silymarine against hepatotoxicity induced by antiandrogen – Bicalutamide in rats. *Int J Pharm Pharm Sci* 4(3): 211-213.

-G-

Garcia SJ, Seidler FJ, Slotkin TA (2005). Developmental neurotoxicity of chlorpyrifos: Targeting glial cells. *Environ Toxicol Pharmacol* 19: 455-461.

Gauvreau D, Villeneuve N, Deshaies Y, Cianflone K (2011). Novel adipokines: Links between obesity and atherosclerosis. *Annales d'Endocrinologie* 72: 224-231.

Giray B, Gurbay A, Hincal F (2001). Cypermethrin-induced oxidative stress in rat brain and liver is prevented by vitamin E or allopurinol. *Toxicol Lett* 118: 139-146.

Goldberg IJ, Paterniti JR, Ginsberg HN, Lindgren FT, Brown WV (1982). Lipoprotein metabolism during acute inhibition of hepatic triglyceride lipase in the *Cynomolgus* monkey. *J Clin Invest* 70: 1184-1192.

Goldberg RB (2009). Cytokine and cytokine-like inflammation markers, endothelial dysfunction, and imbalanced coagulation in development of diabetes and its complications. *J Clin Endocrinol Metab* 94(9): 3171-3182.

Greenop KR, Peters S, Bailey HD, Fritschi L, Attia J, Scott RJ, Glass DC, Klerk NH, Alvaro F, Armstrong BK, Milne E (2013). Exposure to pesticides and the risk of childhood brain tumors. *Cancer Causes Control* 24: 1269-1278.

Grewal G, Verma PK, Dhar V, Srivastava AK (2009). Toxicity of subacute oral administration of cypermethrin in rats with special reference to histopathological changes. *Int J Green Pharm* 3: 293-399.

Gueraud F, Atalay M, Bresgen N, Cipak A, Eckl PM, Huc L, Jouanin I, Siems W, Uchida K (2010). Chemistry and biochemistry of lipid peroxidation products. *Free Radic Res* 44: 1098-1124.

Guyton AC, Hall JE (1996). Text book of Medical Physiology, 9th ed. Prism Book (Pvt) Ltd., Bangalore, India p1148.

-H-

Hall CL (1978). Acyl-Co A deshydrogenase and electron transferring flavoprotein. *Methods Enzymol* 53: 502-518.

Haugen F, Drevon CA (2007). The interplay between nutrients and the adipose tissue. *Proc Nutr Society* 66: 171-182.

Hénault-Ethier L (2016). Background: Pyrethroids - just because we can use them at home doesn't mean that they're harmless. *Canadien association of physiciens for the environment* p13.

Hodgson E (2004). A textbook of modern toxicology. 3rd edition. John Wiley and Sons, Inc, New Jersey 203-211.

Hoffmann R, Franzke A, Buer J, Sel S, Oevermann K, Duensing A, Probst M, Duensing S, Kirchner H, Ganser A, Atzpodien J (1999). Prognostic impact of in vivo soluble cell adhesion molecules in metastatic renal cell carcinoma. *Br J Cancer* 79: 1742-1745.

Hongsibsong S, Stuetza W, Susa N, Prapamontol T, Grune T, Frank J (2014). Dietary exposure to continuous small doses of alpha-cypermethrin in the presence or absence of dietary curcumin does not induce oxidative stress in male Wistar rats. *Toxicology Reports* 1: 1106-1114.

Hossain MM, Richardson JR (2011). Mechanism of pyrethroid pesticide-induced apoptosis: role of Calpain and the ER stress pathway. *Toxicol Sci* 122(2): 512-525.

Hussien HM, Abdou HM, Yousef MI (2011). Cypermethrin induced damage in genomic DNA and histopathological changes in brain and haematotoxicity in rats:

The protective effect of sesame oil. *Brain Res Bull* 8. doi:10.1016/j.brainresbull.2011.10.020.

-I-

Ippolito A, Carolli M, Varolo E, Villa S, Vighi M (2012). Evaluating pesticide effects on freshwater invertebrate communities in alpine environment: a model ecosystem experiment. *Ecotoxicology* 21: 2051-2067.

Ismail MF, Mohamed HM (2012). Deltamethrin-induced genotoxicity and testicular injury in rats: comparison with biopesticide. *Food Chem Toxicol* 50: 3421-3425.

-J-

Jacota SK, Dani HM (1982). A new calorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folin phenol reagent. *Anal Biochem* 127: 178-182.

Jeziarska B, Ługowska K, Witeska M (2009). The effects of heavy metals on embryonic development of fish (a review). *Fish Physiol Biochem* 35: 625-640.

John DM, Dana BB, Russ H (2009). Pyrethroid insecticide metabolites are associated with serum hormone levels in adult men. *Reprod Toxicol* 27(2): 155-160.

Jothi ET, Ravichandiran V, Durga NP, Srikanth V, SubaV (2012). Hepatoprotective activity of different leaf extracts of *tecomaria capensis* in rats. *Int J Pharm Pharm Sci* 4(3): 252-256.

-K-

Kaabachi N, Fellah H, Abdelmoula J (1992). Evolution des lipides au cours de la grossesse. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 21(5): 544-548.

Kabbaj O, Yoon SR, Holm C, Rose J, Vitale ML, Pelletier MR (2003). Relationship of the hormone-sensitive lipase-mediated modulation of cholesterol metabolism in individual compartments of the testis to serum pituitary hormone and testosterone concentrations in a seasonal breeder, the mink (*Mustelavison*). *Biol Reprod* 68: 722-734.

Kadous A, Matsumura F, Enan E (1994). High affinity binding of 3-verapamil to rat brain synaptic membrane is antagonized by pyrethroid insecticides. *J Environ Sci Health* 29: 855-871.

Kale M, Rathore N, John S, Bhatnagar D (1999). Lipid peroxidative damage on pyrethroid exposure and alterations in antioxidant status in rat erythrocyte: A possible involvement of reactive oxygen species. *Toxicol Lett* 105: 197-205.

Kanbur M, Siliğ Y, Eraslan G, Karabacak M, Sarıca ZS, Şahin S (2016). The toxic effect of cypermethrin, amitraz and combinations of cypermethrin-amitraz in rats. *Environ Sci Pollut Res* 23(6): 5232-5242.

Kavvalakis MP, Tsatsakis AM (2012). The atlas of dialkylphosphates; assessment of cumulative human organophosphorus pesticides' exposure. *Forensic Sci Int* 218 (1-3): 111-122.

Khan A, Ahmad L, Khan MZ (2012). Hemato-biochemical changes induced by pyrethroid insecticides in avian, fish and mammalian species. *International Journal Of Agriculture & Biology* 14(5): 834-842.

Kim JK, Gavrilova O, Chen Y, Reitman ML, Shulman GI (2000). Mechanism of insulin resistance in A-ZIP/F-1 fatless mice. *J Biol Chem* 275: 8456-8460.

Kim MJ, Pelloux V, Guyot E, Tordjman J, Bui LC, Chevallier A, Forest C, Benelli C, Clément K, Barouki R (2012). Inflammatory pathway genes belong to major targets of persistent organic pollutants in adipose cells. *Environmental Health Perspectives* 120 (4): 508-514.

Klimek J (1990). Cytochrome P-450 involvement in the NADPHdependent lipid peroxidation in human placental mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 1044: 158-164.

Kumar A, Sharma B, Pandey RS (2012). Assessment of stress in effect to pyrethroid insecticides, k-cyhalothrin and cypermethrin, in a freshwater fish, *Channa punctatus* (Bloch). *Cell Mol Biol* 58(1): 153-159.

-L-

Langin D (2000). Millennium fat-cell lipolysis reveals unsuspected novel tracks. *Horm Metab Res* 11-12: 443-452.

Langin D (2005). Adipocyte lipases and defect of lipolysis in human obesity. *Diabetes* 11: 3190-3197.

Lau C, Thibodeaux JR, Hanson RG, Rogers JM, Grey BE, Stanton ME, Butenhoff JL, Stevenson LA (2003). Exposure to Perfluorooctane Sulfonate during pregnancy in rat and mouse. II: Postnatal Evaluation. *Toxicol Sci* 74 (2): 382-392.

Leng G, Kühn K-H, Idel H (1997). Biological monitoring of pyrethroids in blood and pyrethroid metabolites in urine: Applications and limitations. *Sci Total Environ* 199: 173-181.

Leng G, Gries W (2005). Simultaneous determination of pyrethroid and pyrethrin metabolites in human urine by gas chromatography-high resolution mass spectrometry. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci* 814: 285-294.

Levine RL, Garland D, Oliver CN, Climent I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER (1990). Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 186: 464-478.

Li H, Ma H, Lydy MJ, You J (2014). Occurrence, seasonal variation and inhalation exposure of atmospheric organophosphate and pyrethroid pesticides in an urban community in South China. *Chemosphere* 95: 363-369.

Lim S, Son KR, Song IC, Park HS, Jin CJ, Jang HC, Park KS, Kim YB, Lee HK (2009). Fat in liver/muscle correlates more strongly with insulin sensitivity in rats than abdominal fat. *Obesity* 17: 188-195.

London L, Beseler C, Bouchard MF, Bellinger DC, Colosio C, Grandjean P, Harari R, Kootbodien T, Kromhout H, Little F, Meijster T, Moretto A, Rohlman DS, Stallones L. (2012). Neurobehavioral and neurodevelopmental effects of pesticide exposures. *Neurotoxicology* 33: 887-896.

- Lowry OH, Roserbrough NJ, Farr AL, Randall RI (1951). Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
- Lyall K, Croen LA, Sjödin A, Yoshida CK, Zerbo O, Kharrazi M, Windham GC (2016). Polychlorinated biphenyl and organochlorine pesticide concentrations in maternal mid-pregnancy serum samples: Association with autism spectrum disorder and intellectual disability. *Environ Health Perspect* 1-34.
- M-
- Manna S, Bhattacharyya D, Basak DK, Mandal TK (2004). Single oral dose toxicity study of alpha-cypermethrin in rats. *Indian J Pharmacol* 36: 25-28.
- Mansour SA, Mossa AH (2010). Adverse effects of lactational exposure to chlorpyrifos in suckling rats. *Human and Experimental Toxicology* 29(2): 77-92.
- Marei AEM, Ruzo LO, Casida JE (1982). Analysis and persistence of permethrin, cypermethrin, deltamethrin and fenvalerate in the fat and brain of treated rats. *J Agric Food Chem* 30: 558-562.
- Mattsson JL, Maurissen JP, Nolan RJ, Brzak KA (2000). Lack of differential sensitivity to cholinesterase inhibition in fetuses and neonates compared to dams treated perinatally with chlorpyrifos. *Toxicol Sci* 53: 438-446.
- Mazzucotelli A, Langin D (2006). La mobilisation des acides gras et leur utilisation dans le tissu adipeux : une nouvelle donne. *Journal de la Société de Biologie* 200 (1): 83-91.
- Meeker JD, Ryan L, Barr DB, Hauser R (2006). Exposure to non persistent insecticides and male reproductive hormones. *Epidemiol* 17: 61-68.
- Meggs WJ, Brewer KL (2007). Weight gain associated with chronic exposure to chlorpyrifos in rats. *J Med Toxicol* 3(3): 89-93.
- Merkel M, Eckel RH, Goldberg IJ (2002). Lipoprotein lipase: genetics, lipid uptake, and regulation. *J Lipid Res* 43: 1997-2006.

Merzouk H, Meghelli-Bouchenak M, Loukidi B, Peost J, Belleville J (2000). Impaired serum lipids and lipoproteins in fetal macrosomia related to maternal obesity. *Biology Neonate* 77: 17-24.

Mignini F, Nasuti C, Fedeli D, Mattioli L, Cosenza M, Artico M, Gabbianelli R (2013). Protective effect of alpha-lipoic acid on cypermethrin-induced oxidative stress in wistar rats. *Int J Immunopathol Pharmacol* 26: 871-881.

Milagro FI, Campion J, Martinez JA (2006). Weight gain induced by high-fat Feeding involves increased liver oxidative stress. *Obesity (Silver Spring)* 14(7): 1118-1123.

Miller M, Chernyak SM, Domino SE, Batterman SA, Loch-Carusio R (2012). Concentrations and speciation of polybrominated diphenyl ethers in human amniotic fluid. *Sci Total Envir* 417-418, 294-298. doi: 10.1016/j.scitotenv.2011.11.088

Mitro SD, Johnson T, Zota AR (2015). Cumulative chemical exposures during pregnancy and early development. *Curr Environ Health Rep* 2: 367-378.

Miyoshi H, Souza SC, Zhang HH, Strissel KJ, Christoffolette MA, Kovsan J, Rudish A (2006). Perilipin promotes hormone-sensitive lipase mediated adipocyte lipolysis via phosphorylation dependent and independent mechanisms. *J Biol Chem* 281: 15837-15844.

Morgan MK (2012). Children's exposures to pyrethroid insecticides at home: A review of data collected in published exposure measurement studies conducted in the United States. *Int J Environ Res Public Health* 9: 2964-2985.

Mossa AH, Abbassy M (2012). Adverse haematological and biochemical effects of certain formulated insecticides in male rats. *Research Journal of Environmental Toxicology* 6: 160-168.

Mossa ATH, Heikal TM, Belaiba M, Raelison EG, Ferhout H, Bouajila J (2015). Antioxidant activity and hepatoprotective potential of *Cedrelopsis grevei* on cypermethrin induced oxidative stress and liver damage in male mice. *Bio Med Central: Complementary and Alternative Medicine* 15: 251.

Mueller U, Lenton L, Ray D (2006). Cypermethrin (including alpha- and zeta-cypermethrin). In : Pesticide residues in food, joint meeting of the FAO panel of experts on pesticide residues in food and the environment. WHO core assessment group p595.

Muhlebach S, Moor MJ, Wyss PA, Bickel MH (1991). Kinetics of distribution and elimination of DDE in rats. *Xenobiotica* 21: 111-120.

Mullerova D, Kopecky J (2007). White adipose tissue: storage and effector site for environmental pollutants. *Physiological Research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca* 56: 375-381.

Multigner L (2005). Effets retardés des pesticides sur la santé humaine. *Environnement Risques & Santé* 4(3): 187-194.

Munoz-de-Toro M, Beldomenico HR, Garcia SR, Stoker C, De Jesus JJ, Beldomenico PM, Ramos JG, Luque EH (2006). Organochlorine levels in adipose tissue of women from a littoral region of Argentina. *Environ Res* 102: 107-112.

Muthuviveganandavel V, Muthuraman P, Muthu S, Srikumar K (2008). A study on low dose cypermethrin induced histopathology, lipid peroxidation and marker enzyme changes in male rat. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 91: 12-16.

-N-

Narahashi T (2000). Neuroreceptors and ion channels as the basis for drug action: past, present, and future. *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics* 294(1): 1-26.

Nasuti C, Gabbianelli R, Falcioni ML, Di Stefano A, Sozio P, Cantalamessa F (2007). Dopaminergic system modulation, behavioral changes, and oxidative stress after neonatal administration of pyrethroids. *Toxicology* 229(3): 194-205.

National Cancer Institute (2010). Reducing environmental cancer risk: what we can do now. President's Cancer Panel 2008-2009 annual report. Bethesda, MD: National Cancer Institute p147.

-O-

Ojha A, Yaduvanshi SK, Srivastava N (2011). Effect of combined exposure of commonly used organophosphate pesticides on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology* (99): 148-156.

Okuno YU, Seki T, Ito S, Kaneko H, Watanabe T, Yamada T, Miyamoto J (1986). Differential metabolism of fenvalerate and granuloma formation. *Toxicol Appl Pharmacol* 83: 157-163.

OMS (1997). Guide pour le calcul des quantités de résidus de pesticides apportés par l'alimentation (révision). Genève : OMS p22.

OMS (2009). Specifications and evaluations for public health pesticides, Alpha-Cypermethrin p67.

Ong JM, Kern PA (1989). Effect of feeding and obesity on lipoprotein lipase activity, immunoreactive protein, and messenger RNA levels in human adipose tissue. *J Clin Invest* 84: 305-311.

Onil S, Saint-laurent L (2001). Guide de prévention pour les utilisateurs de pesticides en agriculture maraîchère p4.

Oulhote Y, Bouchard MF (2013). Urinary metabolites of organophosphate and pyrethroid pesticides and behavioral problems in Canadian children. *Environ Health Perspect* 121: 1378-1384.

-P-

Pacifico L, Cantisani V, Anania C, Bonaiuto E, Martino F, Pascone R, Chiesa C (2009). Serum uric acid and its association with metabolic syndrome and carotid atherosclerosis in obese children. *European Journal of Endocrinology* 160: 45-52.

Palanivelu P, Vijayavel K, Ezhilarasibalasubramanian S and Balasubramanian MP (2005). Influence of insecticidal derivatives (Cartap Hydrochloride) from the marine polychaete on certain enzymes of the freshwater fish *Oreochromis mossambicus*. *J Environ Biol* 26: 191-196.

Parvez S, Raisuddin S (2005). Protein carbonyls: novel biomarkers of exposure to oxidative stress-inducing pesticides in freshwater fish *Channa punctata* (Bloch). *Environ Toxicol Pharmacol* 20(1): 112-117.

Pathak R, Suke SG, Ahmed T, Ahmed RS, Tripathi AK, Guleria K, Sharma CS, Makhijani Sd, Banerjee BD (2010). Organochlorine pesticide residue levels and oxidative stress in preterm delivery cases. *Human and Experimental Toxicology* 1-8. doi:10.1177/0748233710363334.

Pathak R, Mustafa MD, Ahmed T, Ahmed RS, Tripathi AK, Guleria K, Banerjee BD (2011). Intra uterine growth retardation: Association with organochlorine pesticide residue levels and oxidative stress markers. *Reproductive Toxicology* 31: 534-539.

Pedigo LP (2002). *Entomology and Pest Management*, 4th edition. Prentice Hall, Upper Saddle River. NJ p742.

Pimentel D (1995). Amounts of pesticides reaching target pest: environmental impacts and ethics. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics* 8: 17-29.

Postic C, Girard J (2008). The role of the lipogenic pathway in the development of hepatic steatosis. *Diabetes Metab* 34: 643-648.

Poupon R (2015). Liver alkaline phosphatase: A missing link between cholestasis and biliary inflammation. *Hepatology* 61(6): 2080-2090.

Priyanka R, Priyanka M, Pradeep B (2012). Effect of cyfluthrin (synthetic pyrethroid –solfac 050ew) on aspartate and alanine aminotransferase profiles in acute and sub-chronic study with swiss albino mice. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 4 (5): 477-479.

Pulinilkunnil T, Rodrigues B (2006). Cardiac lipoprotein lipase: metabolic basis for diabetic heart disease. *Cardiovasc Res* 69: 329-340.

-Q-

Qi X, Zheng M, Wu C, Wang G, Feng C, Zhou Z (2012). Urinary pyrethroid metabolites among pregnant women in an agricultural area of the Province of Jiangsu, China. *Int J Hygiene Environ Health* 215: 487-495.

Quandt SA, Brooke C, Fagan K, Howe A, Thornburg TK, McCurdy SA (2015). Farmworker housing in the United States and its impact on health. *New Solut* 25(3): 263-286.

Quistad GB, Liang SN, Fisher H J, Nomura DK, Casida JE (2006). Eash lipase has a unique sensitivity profile for organophosphorus inhibitors. *Toxicol sci* 91: 166-172.

-R-

Rahman MF, Siddiqui MK, Jamil K (2000). Acid and alkaline phosphatase activities in a novel phosphorothionate (RPR-11) treated male and female rats. Evidence of dose and time dependent response. *Drug Chem Toxicol* 23: 497-509.

Rai DK, Rai PK, Gupta A, Geeta W, Bechan S (2009). Cartap and carbofuran induced alterations in serum lipid profile of wistar rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 24: 198-201.

Raslan YA, El-Said TA (2011). Neurochemical and oxidative stress of rat offspring after maternal exposure to chlorpyrifos during gestation. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 5(9): 1012-1021.

Ratnasooriya W, Ratnayake S, Jayatunga Y (2003). Effects of Icon, a pyrethroid insecticide on early pregnancy of rats. *Hum Exp Toxicol* 22(10): 523-533.

Ravel R (1995). Clinical Application of Laboratory Data. In: *Clinical Laboratory Medicine*. 6th edition, Mosby-Year Book Inc., St Louis, USA 309-330.

Ray DE (1991). Pesticides derived from plants and other organism. In: W.Y. Hayes, E.R. Lows (Eds.), *Handbook of Pesticide Toxicology*. Academic Press, San Diego, CA 585-636.

Reddy PM, Philip GH, Bashamohideen M (1991). Inhibition of Mg²⁺ and Na⁺-K⁺ ATPases in selected tissues of fish, *Cyprinus caprio* under fenvalerate toxicity. *Biochem Int* 23: 715-721.

Robertson RP, Zhang HJ, Pyzdrowski KL, Walseth TF (1992). Preservation of insulin mRNA levels and insulin secretion in HIT cells by avoidance of chronic exposure to high glucose concentrations. *J Clin Invest* 90: 320-325.

Rolland V, Dugail I, Liepvre XL, Lavau M (1996). Evidence of increased glycerol 3 phosphate dehydrogenase and fatty acid synthase promoter activities in transiently transfected adipocytes from genetically obese rats. *Biol Chem* 20: 1102-1106.

Ryan EA (2003). Hormones and insulin resistance during pregnancy. *Lancet* 362: 1777-1778.

-S-

Sakr SA, Al-Amoudi WM (2012). Effect of leave extract of *Ocimum basilicum* on deltamethrin induced nephrotoxicity and oxidative stress in albino rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 2 (5): 22-27.

Sampey BP, Vanhoose AM, Winfield HM, Freerman AJ, Muehlbauer MJ, Fueger PT, Newgard CB, Makowski L (2011). Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. *Obesity* 19: 1109-1117.

Sankar P, Telang AG, Manimaran A (2012). Protective effect of curcumin on cypermethrin-induced oxidative stress in Wistar rats. *Experimental and Toxicologic Pathology* 64: 487- 493.

Sayim F, Yavasoglu NUK, Uyanikgil Y, Aktug H, Yavasoglu A, Turgut M (2005). Neurotoxic effects of cypermethrin in Wistar rats: a haematological, biochemical and histopathological study. *J Health Sci* 51: 300-307.

Schnorr TM, Lawson CC, Whelan EA (2001). Spontaneous abortion, sex ratio and paternal occupational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Environ Health Perspect* 109(11): 1127-1132.

Sen T, Sen N, Tripathi G, Chatterjee U, Chakrabarti S (2006). Lipid peroxidation associated cardiolipin loss and membrane depolarization in rat brain mitochondria. *Neurochem Int* 49: 20-27.

Serghini A, Mehdaoui O, Fekhaoui M, Venant Y (2004). Le rôle des lipides dans l'accumulation des organochlorés. Cas de l'anguille. *Biologie & Santé* 4(1): 35-42.

Sharma P, Shankar S, Agarwal A, Singh R (2010). Variation in serum lipids and liver function markers in lindane exposed female Wistar rats: Attenuating effect of curcumin, vitamin C and vitamin E. *Asian J Exp Biol Sci* 1: 440-444.

Shi X, Gu A, Ji G, Li Y, Di J, Jin J, Hu F, Long Y, Xia Y, Lu C, Song L, Wang S, Wang X (2011). Developmental toxicity of cypermethrin in embryo-larval stages of zebrafish. *Chemosphere* 85(6): 1010-1016.

Silver MK, Shao J, Chen M, Xia Y, Lozoff B, Meeker JD (2016). Distribution and predictors of pesticides in the umbilical cord blood of chinese newborns. *Int J Environ Res Public Health* 13(1): 94. doi:10.3390/ijerph13010094.

Singh SN, Vats P, Kumria MM, Ranganathan S, Shyam R, Arora MP, Jain CL, Sridharan K (2001). Effect of high altitude (7,620 m) exposure on glutathione and related metabolism in rats. *Eur J Appl Physiol* 84: 233-237.

Soderlund DM (2012). Molecular mechanisms of pyrethroid insecticide neurotoxicity: recent advances. *Archives of Toxicology* 86: 165-181.

Sullivan EI, Grove KI, Langhans W, Geary N (2010). Metabolic Imprinting In Obesity: *Frontiers In Eating And Weight Regulation*. *Forum Nutr Basel Karger* 63: 186-194.

Symington SB, Zhang A, Karstens W, Van Houten J, Clark JM (1999). Characterization of pyrethroid action on ciliary calcium channels in *Paramecium tetraurelia*. *Pestic Biochem Physiol* 65: 181-193.

-T-

Taylor F (1985). Flow-through pH-stat method for lipase activity. *Analytical Biochemistry* 148: 149-153.

Tietz NW, Astles JR, Shuey DF (1989). Lipase activity measured in serum by a continuous monitoring pH-Stat technique-an update. *Clin Chem* 35: 1688-1693.

Tiikkainen M, Bergholm R, Vehkavaara S, Rissanen A, Hakkinen AM, Tamminen M, Teramo K, Yki-Järvinen H (2003). Effects of identical weight loss on body composition and features of insulin resistance in obese women with high and low liver fat content. *Diabetes* 52: 701-707.

Tiwari MN, Singh AK, Ahmad I, Upadhyay G, Singh D, Patel DK, Singh C, Prakash O, Singh MP (2010). Effects of cypermethrin on monoamine transporters, xenobiotic metabolizing enzymes and lipid peroxidation in the rat nigrostriatal system. *Free Radic Res* 44: 1416-1424.

Todd D, Wohlers D, Citra M (2003). Toxicological profile for pyrethrins and pyrethroids. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Division of Toxicology, Atlanta, GA p287.

Tukhtaev K, Tulemetov S, Zokirova N, Tukhtaev N (2012). Effect of long term exposure of low doses of lambda-cyhalothrin on the level of lipid peroxidation and antioxidant enzymes of the pregnant Rats and their offspring. *Medical and Health Science Journal* 13: 93-98.

Turki MA, Elfayoumi RI (2013). Protective effects of vitamine E against testicular enzymes toxicity induced by cypermethrin in mice. *Int J Pharm Bio Sci* 4(2): 942-953.

-U-

Ueker ME, Silva VM, Moi GP, Pignati WA, Mattos IE, Silva AM (2016). Parenteral exposure to pesticides and occurrence of congenital malformations: hospital-based case-control study. *BMC Pediatr* 16(1): 125-130.

UIPP (2009). Rapport d'activité 2008-2009. Union des Industries et de la Protection des Plantes p34.

Unger RH (2003). Minireview: weapons of lean body mass destruction: the role of ectopic lipids in the metabolic syndrome. *Endocrinology* 144(12): 5159-5165.

-V-

Valenzuela A (1991). The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress. *Life Sci* 48: 301-309.

Van den Berg KJ, van Raaij JA, Bragt PC (1991). Notten WR: Interactions of halogenated industrial chemicals with transthyretin and effects on thyroid hormone levels in vivo. *Arch Toxicol* 65: 15-19.

Van der Werf HMG (1996). Assessing the impact of pesticide on the environment. *Agriculture Ecosystems and Environment* 60: 81-86.

Veerappan M, Hwang I, Pandurangan M (2012). Effect of cypermethrin, carbendazim and their combination on male albino rat serum. *Int J Exp Pathol* 93(5): 361-369.

Veillerette F (2002). Pesticides. Le piège se referme. Terre Vivante Editions p112.

-W-

Wang N, Huang M, Guo X, Lin P (2016a). Urinary Metabolites of Organophosphate and Pyrethroid Pesticides and Neurobehavioral Effects in Chinese Children. *Environ Sci Technol* 6; 50(17): 9627-9635.

Wang A, Padula A, Sirota M, Woodruff TJ (2016b). Environmental influences on reproductive health: the importance of chemical exposures. *Fertil Steril* 106(4): 905-929.

WB, (2008). World Development Report. Agriculture for Development p365.

Wingfield MJ, Brockerhoff EG, Wingfield BD, Slippers B (2015). Planted forest health: The need for a global strategy. *Science* 349: 832-836.

Wise S, Green H (1979). Participation of one isozyme of cytosolic glycerophosphate dehydrogenase in the adipose conversion of 3T3 cells. *J Biol Chem* 254: 273-275.

Wohlfahrt-Veje C, Main KM, Schmidt IM, Boas M, Jensen TK, Grandjean P, Skakkebaek NE, Andersen HR (2011). Lower birth weight and increased body fat at school age in children prenatally exposed to modern pesticides: A prospective study. *Environ Health* 10: 79.

-Y-

Yan X, Lashley S, Smulian JC, Ananth CV, Barr DB, Ledoux TA, Hore P, Robson MG (2009). Pesticide concentrations in matrices collected in the perinatal period in a population of pregnant women and newborns in New Jersey, USA. *Hum Ecol Risk Assess* 15: 948-967.

Yousef MI, El-Demerdash FM, Kamel KI, Al-Salhen KS (2003). Changes in some hematological and biochemical indices of rabbits induced by isoflavones and cypermethrin. *Toxicology* 189 (3): 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.

Yousef MI (2010). Vitamin E modulates reproductive toxicity of pyrethroid lambda-cyhalothrin in male rabbits. *Food & Chemical Toxicology* 48 (5): 1152-1159.

-Z-

Zama D, Meraihi Z, Boubekri N, Amrani A, Tebibel S, Baali N (2005). Assessment of the changes in some diagnostics enzymes and other parameters in wistar albino rats treated with pesticides during gestation. *Sciences & Technologie* 23: 51-56.

Zhang H, Wang H, Xu DX (2012). Maternal cypermethrin exposure during lactation disturbs learning and memory ability in adult female offspring in a degree, which may be caused by the reduction of protein level of hippocampus NR1. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi* 30(9): 672-675.

Zota A, Atchley D, Woodruff T (2013). The intrauterine environment and early infancy. In: Landrigan PJ, Etzel RA, editors. *Textbook of children's environmental health*. New York: Oxford University Press.

ANNEXE

Tableau A1. Teneurs sériques du glucose, lipides, protéines totales, urée, l'acide urique et la créatinine

	TS	TI	CS	CI	P (ANOVA)
Glucose (mg/dL)	68,57±2,32 ^d	87,58±3,61 ^c	128,39±5,94 ^b	180,4±6,81 ^a	0,001
Cholestérol (mg/dL)	95,23±4,04 ^d	129,80±3,86 ^c	146,77±5,26 ^b	167,74±7,96 ^a	0,002
Triglycéride (mg/dL)	89,10±2,47 ^d	120,50±3,74 ^c	158,6±3,20 ^b	185,26±3,92 ^a	0,003
Protéines totales (g/L)	58,30±2,91	59,06±2,07	62,61±2,32	65,73±4,65	0,153
Urée (mg/dL)	35,02±2,64 ^c	60,57±2,16 ^b	37,49±2,55 ^c	85,33±1,48 ^a	0,006
Acide urique (mg/dL)	2,14±0,03 ^c	2,86±0,05 ^b	2,79±0,03 ^b	3,34±0,05 ^a	0,005
Créatinine (mg/dL)	1,15±0,04 ^c	1,65±0,03 ^b	1,17±0,03 ^c	1,82±0,04 ^a	0,007

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, à partir de 8 rates par lot. TS: lot témoin consommant le régime standard; TI: lot témoin insecticide consommant le régime standard supplémenté par l'insecticide alpha-cyperméthrine à la dose DJA de 0,02mg/kg/jour; CS: lot obèse consommant le régime cafeteria; CI: lot obèse insecticide, consommant le régime cafeteria supplémenté par l'insecticide à la même dose DJA.

Après vérification de la distribution normale des variables (test Shapiro – Wilk), la comparaison des moyennes entre les différents groupes de rates est effectuée par le test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétée par le test Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux.

Les différences significatives entre les différents lots sont marquées par des lettres différentes (a,b,c,d).

Tableau A2. Marqueurs plasmatiques et érythrocytaires du statut antioxydant

	TS	TI	CS	CI	P (ANOVA)
Vitamine C (µmol/L)	13,43±2,39	12,47±1,81	14,15±3,78	12±1,88	0,191
Catalase (U/gHb)	238,32±6,05 ^a	149,75±9,82 ^c	169,62±11,53 ^b	112,51±8,8 ^d	0,001
SOD (U/gHb)	396,10±28,92 ^a	147,52±19,15 ^b	134,56±13,07 ^b	106,82±12,99 ^c	0,006
Glutathion réduit (µmol/L)	4,43±0,36 ^a	1,85±0,19 ^c	2,73±0,41 ^b	1,90±0,42 ^c	0,005

Tableau A3. Teneurs plasmatiques et érythrocytaires en malondialdéhyde et protéines carbonylées.

	TS	TI	CS	CI	P (ANOVA)
MDA (µmol/L)					
Plasma	2,25±0,29 ^d	3,84±0,31 ^c	4,44±0,24 ^b	5,41±0,16 ^a	0,003
Lysat	3,76±0,17 ^d	4,88±0,25 ^c	5,44±0,30 ^b	6,73±0,34 ^a	0,004
Protéines carbonylées (µmol/L)					
Plasma	0,63±0,06	0,69±0,10	0,68±0,13	0,69±0,11	0,430
Lysat	0,99±0,04 ^c	2,27±0,05 ^b	2,15±0,06 ^b	3,23±0,13 ^a	0,006

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, à partir de 8 rates par lot. TS: lot témoin consommant le régime standard; TI: lot témoin insecticide consommant le régime standard supplémenté par l'insecticide alpha-cyperméthrine à la dose DJA de 0,02mg/kg/jour; CS: lot obèse consommant le régime cafeteria; CI: lot obèse insecticide, consommant le régime cafeteria supplémenté par l'insecticide à la même dose DJA.

Après vérification de la distribution normale des variables (test Shapiro – Wilk), la comparaison des moyennes entre les différents groupes de rates est effectuée par le test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétée par le test Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux.

Les différences significatives entre les différents lots sont marquées par des lettres différentes (a,b,c,d).

Tableau A4. Teneurs tissulaires en malondialdéhyde, protéines carbonylées et glutathion réduit

	TS	TI	CS	CI	P (ANOVA)
MDA (µmol/g)					
Foie	3,26±0,41 ^d	8,05±0,49 ^b	5,87±0,37 ^c	9,91±0,23 ^a	0,001
Tissu adipeux	4,87±0,58 ^d	9,91±0,70 ^b	6,71±0,24 ^c	12,22±1,24 ^a	0,001
Muscle	2,63±0,34 ^d	6,48±0,49 ^b	3,84±0,35 ^c	9,57±0,51 ^a	0,001
Cerveau	1,48±0,34 ^c	4,95±0,32 ^b	1,90±0,31 ^c	5,97±0,49 ^a	0,004
Reins	1,65±0,21 ^c	3,71±0,33 ^b	3,98±0,34 ^b	4,81±0,35 ^a	0,005
Protéines carbonylées (µmol/g)					
Foie	1,42±0,16 ^d	3,62±0,27 ^c	4,95±0,38 ^b	9,92±0,46 ^a	0,001
Tissu adipeux	1,13±0,09 ^c	2,57±0,20 ^b	2,78±0,15 ^b	4,33±0,34 ^a	0,006
Muscle	2,58±0,20 ^c	8,41±0,80 ^a	6,73±0,51 ^b	8,22±0,48 ^a	0,005
Cerveau	1,66±0,31 ^b	4,55±0,38 ^a	1,78±0,35 ^b	4,37±0,46 ^a	0,008
Reins	1,16±0,22 ^d	3,56±0,36 ^b	2,87±0,19 ^c	4,47±0,20 ^a	0,001
Glutathion réduit (µmol/g)					
Foie	1,37±0,05 ^a	0,41±0,04 ^c	0,69±0,06 ^b	0,40±0,05 ^c	0,006
Tissu adipeux	0,23±0,06	0,21±0,04	0,20±0,03	0,17±0,04	0,264
Muscle	0,31±0,02 ^a	0,18±0,03 ^b	0,32±0,04 ^a	0,16±0,02 ^b	0,005
Cerveau	0,17±0,03	0,15±0,02	0,18±0,02	0,17±0,04	0,163
Reins	0,56±0,04 ^a	0,33±0,02 ^b	0,38±0,03 ^b	0,21±0,02 ^c	0,006

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, à partir de 8 rates par lot. TS: lot témoin consommant le régime standard; TI: lot témoin insecticide consommant le régime standard supplémenté par l'insecticide alpha-cyperméthrine à la dose DJA de 0,02mg/kg/jour; CS: lot obèse consommant le régime cafeteria; CI: lot obèse insecticide, consommant le régime cafeteria supplémenté par l'insecticide à la même dose DJA.

Après vérification de la distribution normale des variables (test Shapiro – Wilk), la comparaison des moyennes entre les différents groupes de rates est effectuée par le test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétée par le test Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux.

Les différences significatives entre les différents lots sont marquées par des lettres différentes (a,b,c,d).

Tableau A5. Activités des enzymes tissulaires de l'acyl CoA dehydrogenase, FAS et G3PDH

	TS	TI	CS	CI	P (ANOVA)
Acyl coA dehydrogenase (U/min)	88,45±7,43 ^a	86,46±6,43 ^a	37,27±5,12 ^b	38,37±4,19 ^b	0,020
FAS (U/min)	127,37±14,06 ^c	74,62±2,74 ^d	306,25±25,57 ^a	161,62±17,06 ^b	0,001
G3PDH (U/min)	38±3,79 ^b	33,75±3,28 ^b	62±4,75 ^a	67,87±5,64 ^a	0,030

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type, à partir de 8 rates par lot. TS: lot témoin consommant le régime standard; TI: lot témoin insecticide consommant le régime standard supplémenté par l'insecticide alpha-cyperméthrine à la dose DJA de 0,02mg/kg/jour; CS: lot obèse consommant le régime cafeteria; CI: lot obèse insecticide, consommant le régime cafeteria supplémenté par l'insecticide à la même dose DJA.

Après vérification de la distribution normale des variables (test Shapiro – Wilk), la comparaison des moyennes entre les différents groupes de rates est effectuée par le test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétée par le test Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux.

Les différences significatives entre les différents lots sont marquées par des lettres différentes (a,b,c,d).

Tableau A6. Activités plasmatiques des enzymes transaminases (GPT, GOT) et de la phosphatase alcaline (ALP)

	TS	TI	CS	CI	P (ANOVA)
GPT	24,11±1,55 ^b	35,7±1,34 ^a	25,31±1,16 ^b	34,18±1,67 ^a	0,030
GOT	31,21±1,11 ^b	45,71±1,63 ^a	32,91±1,54 ^b	47,44±2,38 ^a	0,040
ALP	19,88±1,15 ^b	27,68±2,06 ^a	17,35±2,76 ^b	30,08±2,12 ^a	0,030



The effects of alpha-cypermethrin exposure on biochemical and redox parameters in pregnant rats and their newborns



Leila Hocine^a, Hafida Merzouk^{a,*}, Sid Ahmed Merzouk^b, Hafeda Ghorzi^a, Meriem Youbi^a, Michel Narce^c

^a Laboratory of Physiology and Biochemistry of Nutrition, Department of Biology, Faculty of Natural and Life Sciences, Earth and Universe, University Abou-Bekr Belkaid, Tlemcen 13000, Algeria

^b Department of Technical Sciences, Faculty of Engineering, University Abou-Bekr Belkaid, Tlemcen 13000, Algeria

^c INSERM UMR 866, "Lipids Nutrition Cancer", University of Burgundy, Faculty of Sciences, 6 Boulevard Gabriel, Dijon 21000, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 26 January 2016

Received in revised form 8 April 2016

Accepted 18 April 2016

Available online 19 April 2016

Keywords:

Alpha-cypermethrin

Metabolism

Pregnancy

Offspring

Oxidative stress

Rat

ABSTRACT

Pyrethroid insecticides are extensively used in agriculture and in household activities. During pregnancy, they might affect maternal metabolic status and there after fetal development. In this work, we studied metabolic and redox effects of low dose alpha-cypermethrin exposure in pregnant rats and their offspring. The diet containing alpha cypermethrin at 0.02 mg/kg/day was consumed during the entire gestation. Plasma biochemical parameters as well as liver lipid and oxidative stress markers were determined.

Our results showed that alpha-cypermethrin induced an increase in body weight and in plasma glucose and lipid levels, as well as in plasma aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and alkaline phosphatase activities in pregnant rats and their newborns. Pregnant rats showed cellular oxidative stress and altered oxidant-antioxidant status when treated by the insecticide and these disturbances were also seen in their newborns.

In conclusion, low dose alpha-cypermethrin exposure induced several metabolic and redox alterations leading to maternal physiological impairments and to fetal metabolic changes. Alpha-cypermethrin should be used with caution especially during pregnancy.

© 2016 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

Pesticides are extensively used in pest management all over the world but they could have toxic effects on humans. Extensive application of pesticides is usually accompanied with serious problems of pollution and health hazards. Today, their numerous occupational and domestic uses raise many questions about their deleterious health effects. The health consequences of acute poisoning are quite well known, but the long-term consequences of chronic exposure are not well controlled [1].

Pyrethroids are the most commonly insecticides used in agriculture because their high insecticidal properties and low mammalian toxicity. However, these lipophilic compounds are characterized by tissue and neurotoxic damages [2]. Oxidative stress by increased production of reactive oxygen species has been implicated in the toxicity of these insecticides.

There are two types of pyrethroids that differ in chemical structure and with different target sites. Type I pyrethroids or Noncyanopyrethroids affect sodium channels in nerve membranes and open them for relatively short periods. Type II pyrethroids, containing alpha-cyano group, produce a longer delay in sodium channel inactivation leading to a persistent depolarization of the nerve membrane [3]. These compounds affect

principally the nervous system in both mammals and insects [4]. However, other target sites, such as calcium and chloride channels, are also involved in pyrethroid toxicity.

Experimental studies reported that pyrethroids induced oxidative damages at different doses [5]. Pyrethroids have been found to induce mitochondrial dysfunction and oxidative stress in animal models, resulting in both increased oxidant markers and decreased antioxidant activities [6]. Lipid peroxidation is one of the main toxic mechanisms of these compounds [7]. Cellular energy production by mitochondrial ATP degradation is necessary for muscle development and brain function. Many insecticides induce dysregulation of Ca²⁺-mediated signaling and mitochondrial reactive oxygen species (ROS) generation [8]. Toxicity of pyrethroids is also mediated by both the dysregulation of cytoplasmic Ca²⁺ signaling and oxidative stress induction [9].

Pregnant women are exposed to pesticides through a wide variety of sources. Although it is well known that maternal pesticide exposure will affect the fetus, estimates of pesticide amounts used for non-agricultural uses are not available making impossible a real assessment of maternal and fetal toxicity. Animal studies produce findings that support the pesticide adverse effects and add knowledge about the mechanisms of their toxicity. Fetal development is a dynamic process that includes changes in morphology, anatomy, physiology, biochemistry and general growth [10]. Exposure to various environmental chemicals (especially pesticides) during developmental period is liable to give rise to congenital defects [11]. Pyrethroid exposure during pregnancy was negatively

* Corresponding author.

E-mail address: hafidamerzouk_2@hotmail.com (H. Merzouk).

related to maternal health and fetal development with possible teratogenicity [12]. Previous studies have considered that cypermethrin is an endocrine-disrupting compound with adverse effects on fertility and reproduction [13]. The neonates are more sensitive to the exposure of pyrethroids than adults due to incomplete development of enzymes [14]. Children of mothers who live near agricultural areas, or who are otherwise exposed to organophosphate, pyrethroid, or carbamate pesticides during gestation may be at increased risk for neurodevelopmental disorders [15].

Cypermethrin, a synthetic pyrethroid type II, is widely used because of its relatively low toxicity to mammals [16], although some studies showed tissue toxicity [17]. Studies in rats showed that cypermethrin is rapidly metabolized and over 99% eliminated within hours, but accumulation of cypermethrin and its fatty acid conjugates in adipose tissue, brain and liver was reported [18].

There are relatively few studies on gestational exposure to cypermethrin. One previous study reported various damages in developing fetuses after maternal cypermethrin exposure [19]. Prenatally exposure to mixed pesticides of cypermethrin and methyl parathion could cause neural DNA damage [20].

The exposure to pesticides is not only involved in childhood-onset conditions but also in later-life diseases (e.g., neurodegenerative). Zhou et al. [21] found that early-life exposure of mice to pesticides led to a later silencing in the gene (PINK1) responsible for producing a neuro-protective peptide. At the same time these pesticides generate excessive oxidative damage among neurons [22].

Although it is well known that pyrethroids penetrate through the placental barriers and produce fetal toxicity [23], their effects on maternal metabolic changes are not known. Indeed, studies that used nontoxic, environmentally relevant doses are needed to understand maternal metabolic effects of these insecticides. The importance of maternal metabolic status as a major determinant for fetal growth is well known.

Although independent studies have shown that pyrethroid exposure is associated with increased oxidative stress, inflammation and metabolic abnormalities, there are, to the best of our knowledge, no reports in the literature of the effects of alpha-cypermethrin at non toxic dose such as the admissible daily intake (ADI) dose on maternal metabolism and oxidant/antioxidant balance during pregnancy and their offspring. Consequently, the importance to establish an animal model for investigation of this issue became crucial, due to ethical and methodological limitations in human studies.

In the present study, we evaluated the chronic effects of alpha-cypermethrin at ADI dose on biochemical and redox status in pregnant rat and their newborns. We examined whether there are deleterious effects of maternal cypermethrin exposure during pregnancy on maternal and neonate metabolic status.

2. Materials and methods

2.1. Animals and experimental protocol

Adult Wistar rats were obtained from Animal Resource Centre (Algeria). Female rats were housed in cages at a constant temperature (25 °C) and humidity (60 ± 5%) with a 12 h light/dark cycle. The rats had free access to water and were assigned to two dietary groups of equal average body weight. One group (Control, $n = 8$ females) fed the control diet (ONAB, Algeria). The second group (insecticide, $n = 8$ females) fed the control diet containing alpha-cypermethrin at 0.02 mg/kg/day (alpha-cypermethrin 90% TECH; CAS No.: 67375-30-8; purchased from China Leading Manufacturer and supplied by INRAA, Algeria). This dose was chosen, referring to the acceptable daily intake (ADI) to mimic human exposure to insecticides [24]. To prepare experimental diet, appropriate concentrations of alpha-cypermethrin were dissolved in corn oil (1 mL) and added to control diet (15 g/rat) according to the rat weight. Each diet was analyzed for alpha-cypermethrin concentration using high-performance liquid chromatography (HPLC) to assure

that the proper dose of alpha-cypermethrin was delivered. The different diets were consumed by the rats one month before and during the entire gestation (21 days). The rats received 15 g of each diet every day in the morning at 8 H, and 25 g in the afternoon. For the experimental group, 15 g of diet containing alpha-cypermethrin were given in the morning and 25 g without the insecticide in the afternoon. This step allowed us to deliver the proper dose to the rats. The weight and food consumption of each animal were measured daily.

The study was conducted in accordance with the national guidelines for the care and use of laboratory animals. All the experimental protocols were approved by the ethical committee of the experimental animal care at Tlemcen University.

2.2. Blood and tissue samples

At parturition and after overnight fasting, rats were anaesthetized with intraperitoneal injection of sodium pentobarbital (60 mg/kg of body weight). The blood was drawn from the abdominal aorta into heparinized tubes. At birth, newborn rats in each group (control and experimental) were killed by decapitation, and blood was collected and pooled from four animals to obtain sufficient blood samples for biochemical and redox determinations.

After centrifugation, plasma was used for biochemical determinations. After removal of plasma, erythrocytes were washed three times with 2 volumes of isotonic saline. Erythrocytes were lysed with ice-cold distilled water (1/4) and stored at 4 °C for 15 min. The cell debris was removed by centrifugation (2000 g for 15 min). Erythrocyte lysates were assayed for oxidant and antioxidant markers.

Liver were collected, washed, weighed and immediately placed on dry ice. An aliquot of liver tissue was homogenized in an Ultraturax homogenizer (Bioblock Scientific) in 10 volumes of ice-cold 10 mmol/L phosphate-buffered saline (pH 7.4) containing 1.15% KCL. After homogenate centrifugation (6000 g, 4 °C, 15 min), the supernatant fractions were collected and used for biochemical and redox marker determinations.

2.3. Biochemical analysis

Plasma glucose, cholesterol, triglyceride were measured using enzymatic colorimetric methods (kits from BioAssay Systems, Hayward, CA, USA). Plasma aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and alkaline phosphatase (ALP) activities were determined by colorimetric methods using specific kits (Randox Laboratories Ltd, Co Antrim, UK).

2.4. Oxidant/antioxidant marker determination

Plasma vitamin C levels were estimated using Folin phenol reagent in an acidic range of pH, after deproteinization with trichloroacetic acid [25].

Erythrocyte catalase (EC 1.11.1.6) activity was measured by spectrophotometric analysis of the rate of H₂O₂ decomposition at 420 nm [26]. Erythrocyte superoxide dismutase (SOD; EC 1.15.1.1) activity was measured by the NADPH oxidation procedure [27].

Erythrocyte and tissue reduced glutathione (GSH) levels were assayed by a colorimetric method based on the reduction of 5,5-dithiobis-(2-nitrobenzoic) acid by GSH to generate 2-nitro-5-thiobenzoic acid, according to Ellman method [28].

Erythrocyte and tissue malondialdehyde (MDA) levels, a marker of lipid peroxidation, were measured by a method using thiobarbituric acid (TBA) [29].

Erythrocyte and tissue carbonyl proteins (markers of protein oxidation) were assayed by the 2,4-dinitrophenyl hydrazine reaction [30].

2.5. Statistical analysis

Results are expressed as means \pm standard deviation (SD). All variables were checked for normal distribution using the Shapiro–Wilk test. After variance analysis, Student's *t*-test was used to compare means between control and experimental groups, for different parameters. These calculations were performed using STATISTICA version 4.1 (STATSOFT, Tulsa, OK).

3. Results

3.1. Characteristics of the study rats

Alpha-cypermethrin exposure caused a significant increase in body weight, weight gain and absolute and relative liver weights in female rats, without affecting dietary and energy intakes, pup numbers and birth weight (Table 1). In addition, absolute and relative liver weights in neonates of experimental rats were significantly increased compared to control neonates.

3.2. Biochemical parameters in mothers and newborns

Alpha-cypermethrin administration resulted in significant increases of plasma glucose, cholesterol and triglyceride concentrations compared to non treated values (Table 2). Other parameters were sensitive to the effect of insecticide which resulted in a significant increase in plasma AST, ALT and ALP activities in both mothers and newborns.

3.3. Tissue lipid contents in mothers

Alpha-cypermethrin exposure caused a significant increase in liver triglyceride contents in mothers and newborns, without affecting tissue cholesterol contents (Table 3).

3.4. Plasma and erythrocyte oxidative stress markers in mothers and newborns

Insecticide exposure induced a significant increase in erythrocyte oxidant markers (MDA and carbonyl protein levels) and a significant decrease in antioxidant defense markers (GSH, catalase and SOD) in mothers and in their newborns. There was no change in plasma vitamin C levels after insecticide administration (Figs. 1 and 2).

3.5. Tissue oxidative stress markers in mothers and newborns

Insecticide exposure induced a significant increase in maternal and neonate liver MDA and carbonyl protein levels and a significant decrease in liver GSH (Fig. 3).

Table 1

Body and liver weights and dietary intake in mothers.

	Control group	Insecticide group
Body weight (g)	297.87 \pm 17.27	361.87 \pm 22.07**
Weight gain (g)	100.02 \pm 12.55	160 \pm 11.56*
Dietary intake (g/day)	30.45 \pm 3.70	31.22 \pm 2.53
Birth weight (g)	5.55 \pm 0.46	5.64 \pm 0.32
Pup number	8 \pm 2	6 \pm 3
Maternal liver weight (g)	8.52 \pm 0.44	11.64 \pm 0.32*
Relative maternal liver weight (%)	2.86 \pm 0.06	3.24 \pm 0.08*
Neonate liver weight (g)	0.42 \pm 0.03	0.60 \pm 0.05*
Relative neonate liver weight (%)	7.56 \pm 0.54	10.63 \pm 0.87*

Values are presented as means \pm SD. Insecticide group: rats fed the diet containing alpha-cypermethrin at 0.02 mg/kg/day. Values were compared by Student's *t*-test after variance analysis.

Insecticide group versus control group: **P* < 0.01; ***P* < 0.001.

Table 2

Biochemical parameters in mothers and newborns.

	Control group	Insecticide group
<i>Mothers</i>		
Glucose (mg/dL)	68.57 \pm 2.30	87.58 \pm 3.61**
Cholesterol (mg/dL)	95.23 \pm 4.00	129.80 \pm 3.86**
Triglyceride (mg/dL)	89.10 \pm 2.40	120.50 \pm 3.74**
ALT (IU/L)	24.11 \pm 1.51	35.7 \pm 1.34*
AST (IU/L)	31.21 \pm 1.12	45.71 \pm 1.63*
ALP (IU/L)	19.88 \pm 1.10	27.68 \pm 2.06*
<i>Newborns</i>		
Glucose (mg/dL)	44.60 \pm 2.56	59.84 \pm 2.11*
Cholesterol (mg/dL)	50.08 \pm 2.23	73.44 \pm 2.54**
Triglyceride (mg/dL)	25.37 \pm 1.62	42.86 \pm 2.13**
ALT (IU/L)	2.32 \pm 0.22	3.66 \pm 0.25*
AST (IU/L)	2.45 \pm 0.15	3.98 \pm 0.30*
ALP (IU/L)	1.37 \pm 0.12	1.40 \pm 0.14

Values are presented as means \pm SD. Insecticide group: rats fed the diet containing alpha-cypermethrin at 0.02 mg/kg/day. Values were compared by Student's *t*-test after variance analysis.

Insecticide group versus control group: **P* < 0.01; ***P* < 0.001.

4. Discussion

Today, growing interest is given to pesticide effects during developmental period. Maternal environmental variations can lead to fetal nutrient availability changes and to fetal exposure to diverse chemicals causing serious consequences in later life by permanently reprogramming the functional capacity of organs [31].

Herein, we have evaluated the metabolic and redox effects of alpha-cypermethrin at low dose in pregnant rats and their newborns. Our findings showed an increase in body weight and weight gain of rats exposed to pesticide in comparison to control non exposed rats. The significance of increased body weight induced by low doses of alpha-cypermethrin is not clear, but may be associated with metabolic disturbances [32]. In previous study, mice exposed to other pesticides, like tolyfluanide had more weight gain, glucose intolerance and increased insulin resistance [33]. Indeed, treatment with low doses of atrazine induced insulin resistance, weight gain and low energy metabolism in Sprague Dawley rats [34].

Our results showed increased plasma glucose, cholesterol and triglyceride levels in rats exposed to alpha-cypermethrin and in their newborns, in concordance with previous studies using prallethrin, another pesticide in the same chemical family [35]. Increase in glucose levels possibly reflected increased glucose mobilization [36], reduction in insulin secretion due to the destructive action of cypermethrin on the beta cells of Langerhans islets in the pancreas [37], impairment in hepatic function due to oxidative changes, which reduce liver ability to glycogenesis [38], and of the stimulation of hepatic gluconeogenesis and glycogenolysis [39].

The increase in serum cholesterol may be attributed to lipoprotein metabolism disruption, as shown for carbamate pesticides [40]. Elevated triglyceride levels may also indicate lipid metabolism impairments.

Table 3

Liver lipid contents in mothers and newborns.

	Control group	Insecticide group
<i>Mothers</i>		
Triglyceride (mg/g)	54.50 \pm 3.50	91.44 \pm 2.54**
Cholesterol (mg/g)	28.22 \pm 4.88	25.48 \pm 2.80
<i>Newborns</i>		
Triglyceride (mg/g)	3.46 \pm 0.28	5.72 \pm 0.33*
Cholesterol (mg/g)	2.35 \pm 0.27	2.43 \pm 0.41

Values are presented as means \pm SD. Insecticide group: rats fed the diet containing alpha-cypermethrin at 0.02 mg/kg/day. Values were compared by Student's *t*-test after variance analysis.

Insecticide group versus control group: **P* < 0.01; ***P* < 0.001.

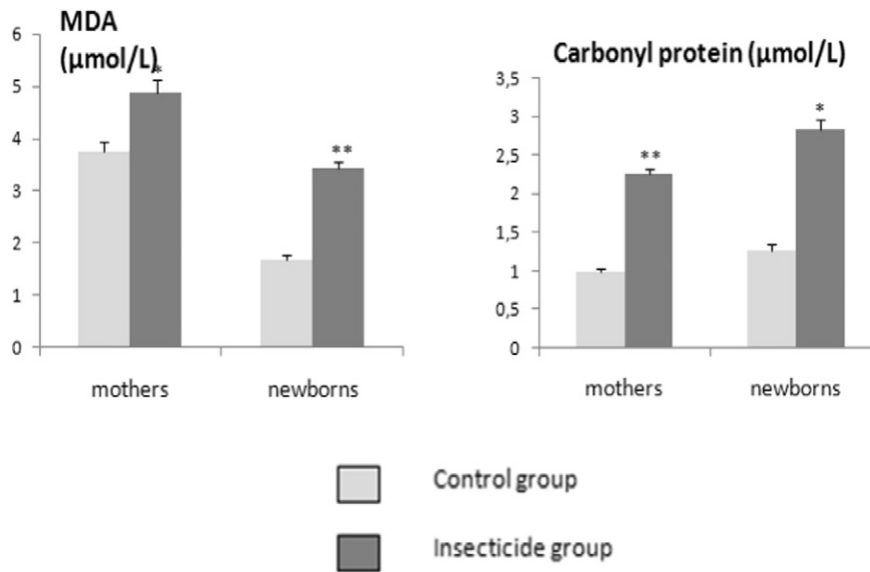


Fig. 1. Erythrocyte oxidant markers in mothers and newborns. Values are presented as means \pm SD. Insecticide group: rats fed the diet containing alpha-cypermethrin at 0.02 mg/kg/day. Values were compared by Student's *t*-test after variance analysis. Insecticide group versus control group: * $P < 0.01$; ** $P < 0.001$.

Yousef et al. [41] reported an increase in serum triglyceride values in male rabbits exposed to cypermethrin after sixth week. An increase in liver triglyceride levels was observed in pregnant rats exposed to alpha-cypermethrin. These findings suggested increased fat synthesis by the liver, as shown for metribuzin [42]. This elevation may also be attributed either to an inhibition of lipase enzyme activity in both hepatic TG and plasma lipoproteins [43]. Sefi et al. [44] reported an elevation in plasma total cholesterol and TG levels in pups and their mothers exposed to Fenthion. In our study, despite significant differences between control and experimental groups, plasma glucose and lipid concentrations in female rats exposed to alpha-cypermethrin were in normal

range, probably due to the low dose used. However, these modifications were sufficient to affect fetal biochemical concentrations.

Our results showed that alpha-cypermethrin exposure increased plasma enzyme activities (ALT, AST, ALP) in rats. Increased serum ALT and ALP activities suggested that alpha-cypermethrin caused hepatic damage and that damage occurred probably through a free radical mechanism [42]. Deltamethrin induced various liver histological changes which caused serum ALT and AST increase [45]. ALT and AST are located in hepatocyte cytosol; their plasmatic enhancement may be due to liver dysfunction and damage [36]. The increase of these enzyme activities in newborns was explained by the early programming of hepatic disorders.

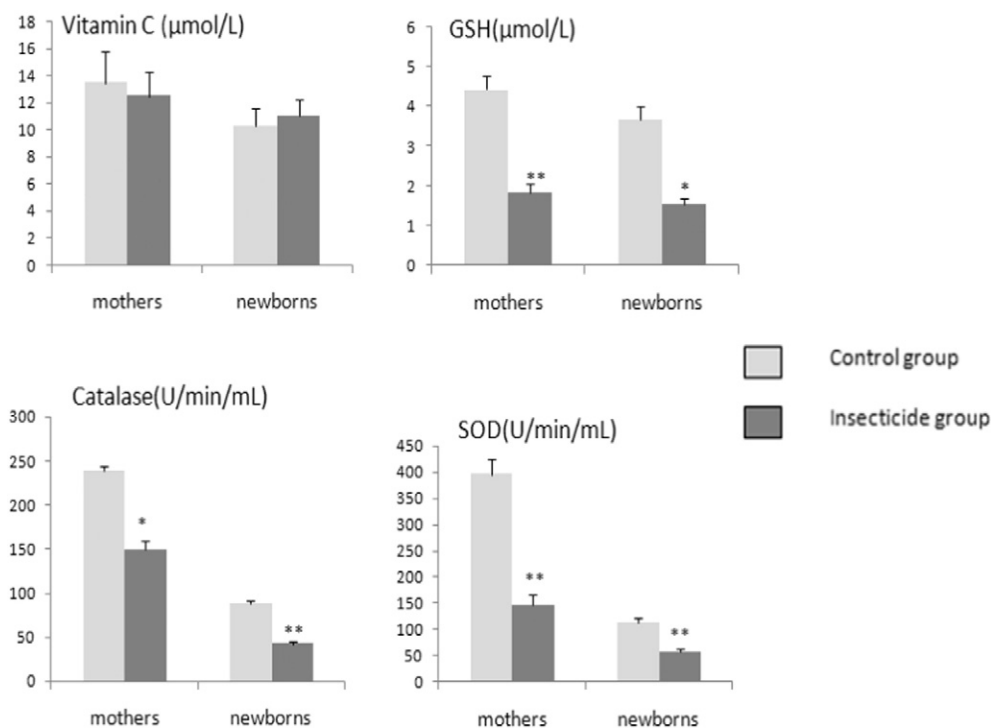


Fig. 2. Plasma vitamin C and erythrocyte antioxidant markers in mothers and newborns. Values are presented as means \pm SD. Insecticide group: rats fed the diet containing alpha-cypermethrin at 0.02 mg/kg/day. Values were compared by Student's *t*-test after variance analysis. Insecticide group versus control group: * $P < 0.01$; ** $P < 0.001$.

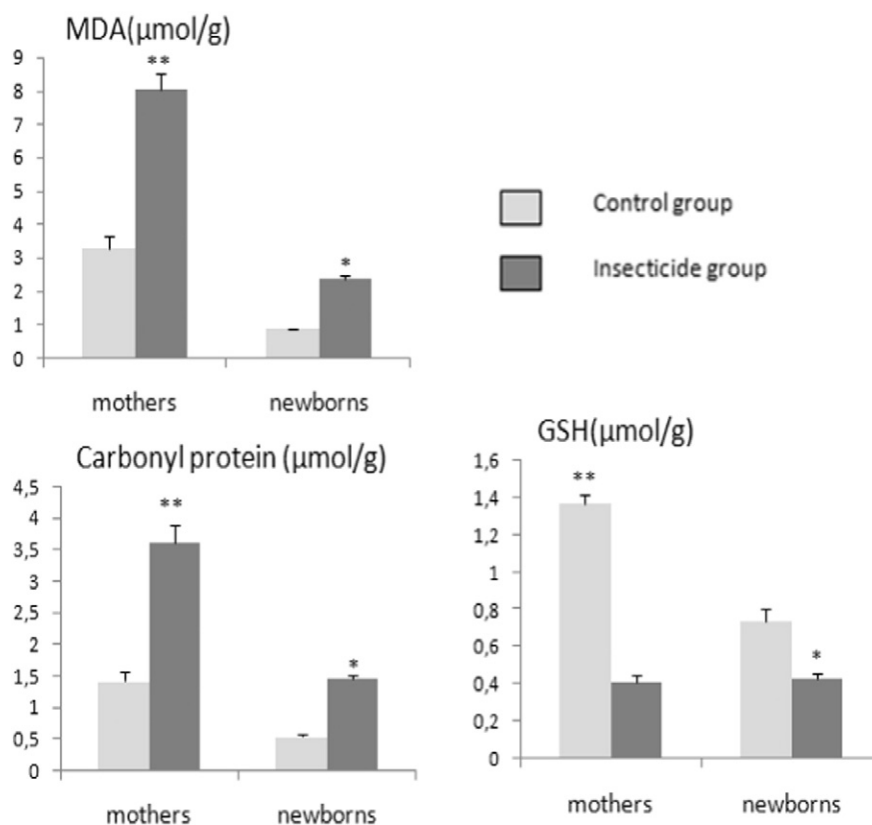


Fig. 3. Liver oxidative stress markers. Values are presented as means \pm SD. Insecticide group: rats fed the diet containing alpha-cypermethrin at 0.02 mg/kg/day. Values were compared by Student's *t*-test after variance analysis. Insecticide group versus control group: $*P < 0.01$; $**P < 0.001$.

Fetoui et al. [46] and Chiali et al. [42] reported that pesticide exposure resulted in increased oxidative stress and altered antioxidant status in different organs. Thus, it may be proposed that cypermethrin induced oxidative stress responsible for the degenerative changes in various organs such as liver. Our results showed that treatment with alpha-cypermethrin resulted in an imbalance between the formation and the inactivation of reactive oxygen species. Tukhtaev et al. [47] reported that prolonged exposure to low doses of lambda-cyhalothrin led to the development of oxidative stress in pregnant females and their offspring.

In our study, oxidative stress was marked by high oxidative parameters (MDA and carbonyl proteins) and low antioxidant defense (SOD, Catalase, GSH). These findings were in agreement with previous results showing that cypermethrin caused an elevation in serum malondialdehyde and a decrease in the antioxidant enzymes (SOD, CAT) [6,48]. The decrease in SOD and catalase activities and GSH levels suggested that exposure to alpha cypermethrin may lead to excessive free radical generation in pregnant rats. In addition, the liver was exposed to oxidative stress. These free radicals might induce deterioration of biological membranes and organ toxicity [42,49,50]. Pyrethroids are metabolized in liver via cytochrome P450 oxidative pathways yielding reactive oxygen species [51]. The decrease in GSH levels may be due to either the inhibition of GSH synthesis or increased utilization of GSH for detoxification [52]. Prasanthi et al. [5] reported that oxidative damage, induced by pyrethroids, might be due to their lipophilicity, whereby they could penetrate easily to cell membrane and caused membrane lipid peroxidation. This could explain the high levels of MDA and protein carbonyl in the liver. This oxidative state may lead to organ damages with biochemical and physiological alterations.

Previous results indicated that cypermethrin is a potent developmental toxicant [53].

Herein, our findings proved that even at low doses, alpha-cypermethrin induced maternal oxidative stress which could lead to fetal redox disturbances.

Our findings agree with previous study in which hepatotoxic and oxidative stress were detected in mice offspring exposed prenatally to chlorpyrifos [54]. Mansour and Mossa [55] reported that lipid peroxidation was significantly increased while glutathione transferase (GST) and superoxide dismutase (SOD) were significantly decreased in treated rats compared to controls. Administration of pyrethroids to pregnant dams enhanced oxidative stress in different regions of the brain; reduced catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activities in their newborns [56].

In conclusion, we observed that maternal exposure to low doses of alpha-cypermethrin resulted in metabolic disorders and oxidative stress during pregnancy. These abnormalities were also observed in newborns. Neonate metabolic changes could have long term health risks. Our results may be considered to estimate gestational risk associated with insecticide exposure. In the light of these observations, alpha-cypermethrin should be used with caution during pregnancy.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

Acknowledgments

This work was supported by the Algerian Research Project (PNR, 2011–FAO/WHO reports. INRAA203) on pesticides. The authors thank INRAA (Sidi Bel Abbes, Algeria) for providing alpha-cypermethrin used in this study.

References

- [1] M.C. Alavanja, J.A. Hoppin, F. Kamel, Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity, *Annu. Rev. Public Health* 25 (2004) 155–197.

- [2] H. Rehman, A. Al thbiani, S. Shalini, A. Zahidk horshid, M. Anand, A.A. Abid, Systematic review on pyrethroid toxicity with special reference to deltamethrin, *J. Entomol. Zool. Stud.* 2 (2014) 60–70.
- [3] S.M. Soderlund, J.M. Clark, L.P. Sheets, L.S. Mullin, V.J. Piccirillo, D. Sargent, J.T. Stevens, M.L. Weiner, Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment, *Toxicology* 171 (2002) 3–59.
- [4] K. Sukontason, T. Chaiwong, J. Tayutivutikul, P. Somboon, W. Choochote, S. Piangjai, K.L. Sukontason, Susceptibility of *Musca domestica* and *Chrysomya megacephala* to permethrin and deltamethrin in Thailand, *J. Med. Entomol.* 42 (2005) 812–814.
- [5] K. Prasanthi, K. Muralidhara, P.S. Rajini, Fenvalerate-induced oxidative damage in rat tissues and its attenuation by dietary sesame oil, *Food Chem. Toxicol.* 43 (2005) 299–306.
- [6] F.M. El-Demerdash, Oxidative stress and hepatotoxicity induced by synthetic pyrethroids-organophosphate insecticides mixture in rat, *J. Environ. Sci. Health* 29 (2011) 145–158.
- [7] P. Kovacic, Mechanism of organophosphates (nerve gases and pesticides) and antidotes: electron transfer and oxidative stress, *Curr. Med. Chem.* 10 (2003) 2705–2709.
- [8] E. Mariussen, F. Fonnum, Neurochemical targets and behavioral effects of organohalogen compounds: an update, *Crit. Rev. Toxicol.* 36 (2006) 253–289.
- [9] D.M. Soderlund, Molecular mechanisms of pyrethroid insecticide neurotoxicity: recent advances, *Arch. Toxicol.* 86 (2012) 165–181.
- [10] J. Roger, R. Kevlock, Casaret and Doull's toxicology: the basic science of poisons, in: C.D. Klassen (Ed.), Chapter 10. *Dev Toxicol* 2001, pp. 351–381.
- [11] N. Akhtar, M.K. Srivastava, R.B. Raizada, Transplacental disposition and teratogenic effects of chlorpyrifos in rats, *J. Toxicol. Sci.* 31 (2006) 521–527.
- [12] Z. Xue, X. Li, Q. Su, L. Xu, P. Zhang, Z. Kong, J. Xu, J. Teng, Effect of synthetic pyrethroid pesticide exposure during pregnancy on the growth and development of infants, *Asia Pac. J. Public Health* 25 (2013) 72–79.
- [13] C. Huang, X. Li, Maternal cypermethrin exposure during the perinatal period impairs testicular development in C57BL male offspring, *PLoS One* 9 (2014) 96781.
- [14] R. Scheuplein, G. Charnley, M. Dourson, Differential sensitivity of children and adults to chemical toxicity: biological basis, *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 35 (2002) 429–447.
- [15] J.F. Shelton, E.M. Geraghty, D.J. Tancredi, L.D. Delwiche, R.J. Schmidt, B. Ritz, R.L. Hansen, I. Hertz-Picciotto, Neurodevelopmental disorders and prenatal residential proximity to agricultural pesticides: the CHARGE study, *Environ. Health Perspect.* 122 (2014) 1103–1109.
- [16] A. Khan, H.A.M. Faridi, M. Ali, M.Z. Khan, M. Siddique, I. Hussain, M. Ahmad, Effects of cypermethrin on some clinico-hemato-biochemical and pathological parameters in male dwarf goats (*Capra hircus*), *Exp. Toxicol. Pathol.* 61 (2009) 151–160.
- [17] R. Ahmed, Perinatal TCDD exposure alters developmental neuroendocrine system, *Food Chem. Toxicol.* 49 (2011) 1276–1284.
- [18] A.E.M. Marei, L.O. Ruzo, J.E. Casida, Analysis and persistence of permethrin, cypermethrin, deltamethrin and fenvalerate in the fat and brain of treated rats, *J. Agric. Food Chem.* 30 (1982) 558–562.
- [19] A.T. Farag, N.F. Goda, N.A. Shaaban, A.H. Mansee, Effects of oral exposure of synthetic pyrethroid, cypermethrin on the behavior of F1-progeny in mice, *Reprod. Toxicol.* 23 (2007) 560–567.
- [20] J. Wang, P. Liu, X. Wu, F. Wang, Studies on DNA damage of the neuron cell in rat offspring induced by cypermethrin and methylparathion during embryo exposure, *Wei Sheng Yan Jiu* 36 (2007) 361–363.
- [21] H. Zhou, C. Huang, J. Tong, X.-G. Xia, Early exposure to paraquat sensitizes dopaminergic neurons to subsequent silencing of PINK1 gene expression in mice, *Int. J. Biol. Sci.* 7 (8) (2011) 1180–1187.
- [22] T. Taetzsch, M.L. Block, Pesticides, microglial NOX2, and Parkinson's disease, *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 27 (2013) 137–149.
- [23] M.K.A. Khan, Asmatullah, Teratogenic effect of sublethal doses of deltamethrin in mice, *Pakistan, J. Zool.* 45 (2013) 857–864.
- [24] FAO/WHO reports, Codex Alimentarius Commission, Reports of the Fourteenth Session of the Codex Committee on Residues of Veterinary Drugs in Foods(USA: Arlington Va) 2003 4–7.
- [25] S.K. Jacota, H.M. Dani, A new calorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folin phenol reagent, *Anal. Biochem.* 127 (1982) 178–182.
- [26] H. Aebi, Catalase, in: H.U. Bergmeyer (Ed.) Second ed., *Methods of Enzymatic Analysis*, vol. 2, Verlag Chemie, Weinheim 1974, pp. 673–684.
- [27] E.F. Elstner, R.J. Youngman, W. Obwad, Superoxide dismutase, in: H.U. Bergmeyer (Ed.) third ed., *Methods of Enzymatic Analysis*, vol. 3, Verlag Chemie, Weinheim 1983, pp. 293–302.
- [28] G. Ellman, Tissue sulfhydryl groups, *Arch. Biochem. Biophys.* 82 (1959) 70–77.
- [29] H. Draper, M. Hadley, Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation, *Methods Enzymol.* 186 (1990) 421–431.
- [30] R.L. Levine, D. Garland, C.N. Oliver, I. Climent, A.G. Lenz, B.W. Ahn, S. Shaltiel, E.R. Stadtman, Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins, *Methods Enzymol.* 186 (1990) 464–478.
- [31] F. Perera, J. Herbstman, Prenatal environmental exposures, epigenetics, and disease, *Reprod. Toxicol.* 31 (3) (2011) 363–373.
- [32] D.L. Baconi, M. Barca, G. Manda, A.M. Ciobanu, C. Balalau, Investigation of the toxicity of some organophosphorus pesticides in repeated dose study in rats, *Romanian J. Morphol. Embryol.* 54 (2013) 349–356.
- [33] S.M. Reginer, A.G. Kirkley, H. Ye, E. El-Hashani, X. Zhang, B.A. Neel, W. Kamau, C.C. Thomas, A.K. Williams, E.T. Hayes, N.L. Massad, D.N. Johnson, L. Huang, C. Zhang, R.M. Sargis, Dietary exposure to the endocrine disruptor tolylfluaniid promotes global metabolic dysfunction in male mice, *Endocrinology* 156 (2015) 896–910.
- [34] S. Lim, S.Y. Ahn, I.C. Song, M.H. Chung, H.C. Jang, K.S. Park, K.U. Lee, Y.K. Pak, H.K. Lee, Chronic exposure to the herbicide, atrazine, causes mitochondrial dysfunction and insulin resistance, *PLoS One* 4 (2009), e5186.
- [35] A. Akhtar, A.A. Deshmukh, C.G. Raut, A.P. Somkuwar, S.S. Bhagat, Prallethrin induced serum biochemical changes in Wistar rats, *Pestic. Biochem. Physiol.* 102 (2012) 160–168.
- [36] M. Veerappan, I. Hwang, M. Pandurangan, Effect of cypermethrin, carbendazim and their combination on male albino rat serum, *Int. J. Exp. Pathol.* 93 (2012) 361–369.
- [37] G. Eraslan, M. Kanbur, S. Silici, S. Altinordulu, M. Karabacak, Effects of cypermethrin on some biochemical changes in rats: the protective role of propolis, *Exp. Anim.* 57 (2008) 453–460.
- [38] G.K. Bhatti, I.P.S. Sidhu, N.K. Saini, S.K. Puar, G. Singh, J.S. Bhatti, Ameliorative role of melatonin against cypermethrin induced hepatotoxicity and impaired antioxidant defense system in Wistar rats, *J. Environ. Sci.* 8 (2014) 39–48.
- [39] A.P. Bhanu, M. Deepak, Impact of cypermethrin on biochemical aspects of clinical importance in the blood of freshwater fish *Cyprinus carpio*, *J. Entomol. Zool. Stud.* 3 (2015) 126–128.
- [40] D.K. Rai, P.K. Rai, A. Gupta, G. Watal, B. Sharma, Cartap and carbofuran induced alterations in serum lipid profile of wistar rats, *Indian J. Clin. Biochem.* 24 (2009) 198–201.
- [41] M.I. Yousef, F.M. El-Demerdash, K.I. Kamel, K.S. Al-Salhen, Changes in some hematological and biochemical indices of rabbits induced by isoflavones and cypermethrin, *Toxicology* 189 (2003) 223–234.
- [42] F.Z., Chiali, H. Merzouk, S.A. Merzouk, A. Medjdoub, M. Narce, Chronic low level metribuzin exposure induces metabolic alterations in rats, *Pestic. Biochem. Physiol.* 106 (2013) 38–44.
- [43] I.J. Goldberg, J.R. Paterniti, H.N. Ginsberg, F.T. Lindgren, W.V. Brown, Lipoprotein metabolism during acute inhibition of hepatic triglyceride lipase in the Cynomolgus monkey, *J. Clin. Invest.* 70 (1982) 1184–1192.
- [44] M. Sefi, H. Bouaziz, N. Soudani, T. Boudawara, N. Zeghal, Fenthion induced-oxidative stress in the liver of adult rats and their progeny: alleviation by *Artemisia campestris*, *Pestic. Biochem. Physiol.* 101 (2011) 71–79.
- [45] H.A. Lamfon, Effect of silymarin against deltamethrin induced histological and biochemical changes in liver of albino rats, *Egypt, J. Exp. Biol.* 3 (2007) 165–169.
- [46] H. Fetoui, M. Makni, M. Garoui, N. Zeghal, Toxic effects of lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroid pesticide, on the rat kidney: involvement of oxidative stress and protective role of ascorbic acid, *Exp. Toxicol. Pathol.* 62 (2010) 593–599.
- [47] K. Tukhtaev, S. Tulemetov, N. Zokirova, N. Tukhtaev, Effect of long term exposure of low doses of lambda cyhalothrin on the level of lipid peroxidation and antioxidant enzymes of the pregnant rats and their offspring, *Med. Health Sci. J.* 13 (2012) 93–98.
- [48] A.S. Sakr, Y.A. Albarakai, Effect of cinnamon on cypermethrin-induced nephrotoxicity in albino rats, *Int. J. Adv. Res.* 2 (2014) 578–586.
- [49] C.K. Chow, A.L. Tappel, An enzymatic protective mechanism against lipid peroxidation damage to lungs of ozone-exposed rats, *Lipids* 7 (1972) 518–524.
- [50] T. Sen, N. Sen, G. Tripathi, U. Chatterjee, S. Chakrabarti, Lipid peroxidation associated cardiolipin loss and membrane depolarization in rat brain mitochondria, *Neurochem. Int.* 49 (2006) 20–27.
- [51] J. Klimek, Cytochrome P-450 involvement in the NADPHdependent lipid peroxidation in human placental mitochondria, *Biochim. Biophys. Acta* 1044 (1990) 158–164.
- [52] S.N. Singh, P. Vats, M.M. Kumria, S. Ranganathan, R. Shyam, M.P. Arora, C.L. Jain, K. Sridharan, Effect of high altitude (7,620 m) exposure on glutathione and related metabolism in rats, *Eur. J. Appl. Physiol.* 84 (2001) 233–237.
- [53] K. Raees, K. Asmatullah, Raees Ahmad, pregnancy and fetal correlations of cypermethrin in mice (*Mus musculus*), *Biologia (Pakistan)* 56 (2010) 39–54.
- [54] Y.A. Raslan, A.T.A. El-Said, Neurochemical and oxidative stress of rat offspring after maternal exposure to chlorpyrifos during gestation, *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 5 (9) (2011) 1012–1021.
- [55] S.A. Mansour, A.T. Mossa, Adverse effects of exposure to low doses of chlorpyrifos in lactating rats, *Hum. Exp. Toxicol.* 29 (2) (2010) 77–92.
- [56] F. Syed, P.J. John, I. Soni, Neurodevelopmental consequences of gestational and lactational exposure to pyrethroids in rats, *Environ. Toxicol.* (2015), <http://dx.doi.org/10.1002/tox.22178>.