

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Filière : Biologie
Option : Génétique appliquée



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Evaluation de l'effet neurotoxique des
pesticides et des ondes (portables) sur un
modèle murin**

Présenté par :

ALLAG Lamia & AMRAH CHalabia

Soutenu le : **20 Juin 2017 à 13H00**

Devant le jury composé de :

M^r BASLI A

M^{me} OUAHMED-BOUDAOUH H

M^r BRIBI N

MCA

MCB

MCB

Président

Promoteur

Examineur

Année universitaire : 2016 / 2017.



Remerciements

Avant et après tous, nous remercions notre bon dieu le tout puissant qui nous protège tout le temps et de nous avoir donné du courage, la patience et de la santé pour bien continuer et réaliser ce modeste travail.

Dans cet espace qui réservé, nous tenons à présenter nos profonds remerciements a notre promotrice Mme OUAHMAD H. d'avoir acceptée de nous encadrer et de nous pousser d'avancer ses conseils, son aide, son orientation et sa grande gentillesse malgré son temps précieux et ses autres travaux qui les attend...

Nous remercions particulièrement Mr GIDOUCH Abd R pour ses préventions tous les jours au laboratoire de Médecine

Nous remerciments s'adressent à Melle AIT ALI AL une femme sans égale.

Nos remerciements et considérations sont exprimés a toute l'équipe du laboratoire de Médecine

Nous tenons a remercier les membres de jury d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail qui est l'aboutissement d'un grand défi personnel et qui je l'espère pourra répondre a des ambitions

Notre gratitude va également à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin a la réalisation de ce modeste travail.



DÉDICACE

Je dédie ce modeste travail : A ceux qui m'ont permis de voir la lumière du jour, ceux qui m'ont suivie pas à pas durant mon parcours, ceux à qui je dois ma force, ma patience mon courage, ceux qui sont toute ma vie, mes très chers parents, mon père Mebrouk et ma mère Malika

A la mémoire de mon grand père.

A mon adorable grande mère, sa confiance et son amour d'une mère qui était et y est une deuxième mère pour moi.

A mon très cher oncle Karim, sans toi la maison est vide.

A mon mari Mouhand said, mon âme sœur et la lumière de mon chemin qui m'a entouré par ses conseils, son soutien perpétuel et son amour généreux.

A mes chers et adorables frères : Aghilass, Said, Mami et Bouaziz.

A ma belle famille et surtout mes belles sœurs chacune avec son nom, qui m'ont aidée à finaliser ce travail.

A ma très chère amie et sœur, qui était et y est ma sœur que je n'ai pas eu Samira, je te souhaite tous le bonheur du monde, sans toi je n'ai pas pu terminer ce modeste travail.

A mes très chères amies : Rym, Safia, Mima.

A mon très cher binôme Lamia.

A tous ceux que j'aurais oublié de citer mais qui existent au fond de mon cœur et de ma pensée.

Chava.

DÉDICACE

Je dédie ce travail à Allah, le Tout Puissant, le très miséricordieux et son Prophète (SAW – Paix et Salut sur lui), pour m'avoir guidé dans le bon chemin et m'avoir donné le courage et la santé nécessaire pour mener ce travail. Je vous dois ce que je suis devenue. Louanges et remerciements pour votre clémence et miséricorde

*A la mémoire de **ma mère***

MAKHLOTI Saadia, paix à ton âme.

J'aurai bien aimé que tu sois parmi nous pour nous partager ce bonheur.

Ce travail est sans doute le fruit de tous les sacrifices que tu as consenti de ton vivant. En effet, tu as été pour moi une source intarissable d'affection et de tendresse, un exemple de courage et de persévérance et d'honnêteté dans l'accomplissement du travail bien fait. Tu m'as appris le sens de l'honneur, de la dignité et de la justice. Puisse ce travail m'offrir l'occasion de me rendre digne de tes conseils et d'honorer ta mémoire. Que Dieu te réserve sa démente à sa bien large miséricorde et t'accueille en son vaste paradis auprès des prophètes et des Saints. Amen

A mon père

Aucun mot, aucune dédicace ne saurait exprimer à juste valeur mon estime, mon dévouement, mon respect, ma considération et ma reconnaissance pour la patience et les innombrables sacrifices que tu as consentis pour mon instruction, mon soutien et mon bien-être. Tes bénédictions m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie,

Ta satisfaction restera toujours mon but

Puisse Dieu t'en récompenser, te garder en bonne santé et te procurer une longue vie que je puisse comblée à mon tour.

A ma très chère sœur Saadia,

A mon cher frère Omar , Salah, Farid, Soufiane, et Nassim

Aucune dédicace ne pourrait traduire ma gratitude et ma profonde reconnaissance et mon amour.

Je vous dédie ce travail comme témoignage de mon respect et mon amour éternel.

Puisse Dieu vous procurer la santé, la réussite et beaucoup de bonheur.

A ma cousine Kahina

Merci d'avoir été à mes côtés et de m'avoir rendu pleines de choses faciles. Puisse Dieu nous unir à jamais...

Mes chers cousins et cousines.

A mes amies et amis :AFNAY Safia ,MAJOUR Fatima et mon binôme

En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

A tous mes amis,

A tous ceux que j'aime

A toute ma promotion génétique : 2016/2017

A toute personne m'ayant consacré un moment pour m'aider, me Conseiller, m'encourager ou simplement me sourire.

Lamia.

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste D'abréviation

INTRODUCTION..... 1

CHAPITRE 1:LA SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

PARTIE 1 : LES ONDES DE TELEPHONES PORTABLE..... 3

1.1. LE TELEPHONE PORTABLE.....	3
1.2. LE DEBIT D' ABSORPTION SPECIFIQUE	4
1.3. INTERACTIONS DES CHAMPS RF AVEC LES SYSTEMES BIOLOGIQUES	5
1.3.1. Pénétration des ondes RF dans le système biologique	5
1.3.2. Effets biologiques des RF.....	6
1.3.2.1. Les effets thermiques.....	6
1.3.2.2. Les effets non thermiques.....	7
1.3.2.3. Les effets indirects.....	7
1.4. CHAMPS RF ET EFFETS SANITAIRES	7
1.4.1. Les effets spécifiques des RF sur le système nerveux central	7

PARTIE 2:EFFET DES PESTICIDES..... 9

2.1. CLASSIFICATION DES PESTICIDES.....	9
2.2. PESTICIDES ET GENE	11
2.3. LES MECANISMES MOLECULAIRES DES ORGANOPHOSPHORE ET LES HERBICIDES SUR LE CERVEAU	12
2.3.1. Effet des herbicides	12
2.3.1.1. Le mécanisme moléculaire d'herbicide glyphosate sur hippocampe	13
2.3.1.2. Mécanisme moléculaire des organophosphores.....	14

CHAPITRE 2: MATERIEL ET METHODES..... 16

3.1. MATERIEL	16
3.1.1. L'élevage.....	16
3.2. PROCEDURE EXPERIMENTALE	16
3.2.1. Test de neurotoxicité des ondes émises par le téléphone portable	16
3.2.1.1. Système d'exposition.....	17
3.2.1.1. Tests comportementaux.....	18
3.2.1.2. Test de reconnaissance d'objet.....	18
▪ Objets utilisés	18
3.2.1.3. Déroulement des tests de reconnaissance	19
▪ Séance d'habituation.....	19
▪ Séances d'acquisition et de rétention de la tâche de reconnaissance d'objet	19
3.2.1.4. Taches dans la piscine de Morris.....	20
• Déroulement du test.....	20
3.2.2. Test de neurotoxicité du mélange de pesticides	22
3.2.2.1. Choix des pesticides	22

3.2.2.2. Préparation des solutions des pesticides.....	22
3.2.2.3. Le choix de la dose.....	23
3.2.2.4. Traitement des souris.....	23
3.3. COLORATION ETAPES HISTOLOGIQUE.....	23
3.4. ETUDE STATISTIQUE.....	24

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS

PARTIE1 :RESULTATS ET DISCUSSIONS DES ONDES TELEPHONIQUES..... 25

4.1. COMPORTEMENT GENERAL DES SOURIS.....	25
4.2. RESULTATS DES TESTS DE MEMOIRE.....	26
4.2.1. <i>Résultat du test de reconnaissance d'objet.....</i>	<i>26</i>
4.3. RESULTAT DU TEST DE LA PISCINE DE MORRIS.....	27
4.4. RESULTATS DE LA TACHE DE MEMOIRE DE REFERENCE.....	28
4.5. LESIONS MACROSCOPIQUES.....	29
4.5.1. <i>Animal moribond.....</i>	<i>29</i>
4.5.2. <i>Sacrifice final.....</i>	<i>29</i>
4.5.3. <i>Lésions microscopiques.....</i>	<i>29</i>

PARIE 1: RESULTATS ET DISCUSSIONS DES TRAITEMENTS AUX PESTICIDES..... 34

5.1. COMPORTEMENT GENERAL DES SOURIS.....	34
5.2. POIDS CORPOREL:.....	35
5.3. ETUDE MACROSCOPIQUE.....	35
5.4. ETUDE MICROSCOPIQUE :.....	36

CONCLUSION..... 43

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... 45

Liste des figures

FIGURE 1. PENETRATION DES ONDES DANS LE CORPS HUMAIN EN FONCTION DE LEURS FREQUENCES.	5
FIGURE 2. COMPORTEMENT D'UNE ONDE ELECTROMAGNETIQUE.....	6
FIGURE 3. MECANISMES MOLECULAIRES GLYPHOSATE SUR HIPPOCAMPE	13
FIGURE 4. PHOTOGRAPHIE DES SOURIS UTILISEES DANS CETTE ETUDE.....	16
FIGURE 5. PHOTOGRAPHIE DE LA CHAMBRE UTILISEE DANS CETTE ETUDE.....	17
FIGURE 6. MISE EN PLACE D'UN TELEPHONE SOUS LA CAGE.....	17
FIGURE 7. PROTOCOLE D'EXPOSITION AUX ONDES.....	18
FIGURE 8. PHOTOGRAPHIES DE L'ENCEINTE EN CARTONNE UTILISEE AVEC LA SOURIS (A) ET LES OBJETS UTILISES POUR LE TEST DE RECONNAISSANCE D'OBJET (B).....	19
FIGURE 9. PHOTOGRAPHIES DE LA PISCINE UTILISEE, FAMILIARISATION DES SOURIS AU DISPOSITIF DE TEST (A), LA PISCINE RENDUE OPAQUE POUR LE TEST DE LA MEMOIRE DE REFERENCE (B).	20
FIGURE 10. DEROULEMENT DES TACHES DANS LA PISCINE DE MORRIS.....	21
FIGURE 11. PHOTOGRAPHIE D'UNE INJECTION INTRA PERITONEALE D'UNE SOURIS D'UN MELANGE DE DEUX PESTICIDES (GLYP ET CPF).....	23
FIGURE 12. COMPARATIFS REPRESENTANT LE POIDS MOYEN DES ANIMAUX POUR CHACUNE DES PESEES	25
FIGURE 13. HISTOGRAMME INDICE DE RECONNAISSANCE D'OBJET DE SOURIS EXPOSEE AUX ONDES (TEST) ET SOURIS NON EXPOSEE (CONT).	26
FIGURE 14. HISTOGRAMME COMPARATIFS DES RESULTATS OBTENUS LORS DU TESTE DE MEMOIRE DES SOURIS CONTROLE ET SOURIS TEST PENDANTS LES TROIS JOURS D'ACQUISITIONS.....	27
FIGURE 15. HISTOGRAMME COMPARATIFS DES RESULTATS DU CONTROLE NEGATIFS ET POSITIFS PENDANT LE TEST DE RETENTION DE LA PISCINE DE MORRIS.	28
FIGURE 16. PHOTOGRAPHIE ORIGINAL. (A) CERVEAU DE SOURIS CONTROL, (B) CERVEAU DE SOURIS EXPOSE AUX ONDES RF (PRESENCE D'UNE TACHE BLANCHATRE), (C) CERVEAU DE SOURIS EXPOSE AUX ONDES RF (PRESENCE D'UNE MASSE).	29
FIGURE 17. LESIONS MICROSCOPIQUES DE L'HIPPOCAMPE INDUITES PAR L'EXPOSITION A L'ONDE DE LA SOURIS QUI REPRESENTE UN RAFFERMISSEMENT DIFFUS DES HEMISPHERES CEREBRAUX.	30
FIGURE 18. LESION RETROUVEES AU NIVEAU DE L'HIPPOCAMPE : (H&E).....	31
FIGURE 19. LESION RETROUVEES AU NIVEAU DE L'HIPPOCAMPE : (H&E).....	32
FIGURE 20. COURBE D'EVALUATION DE POIDS EN FONCTION DES JOURS D'INJECTION	
FIGURE 21. CERVEAU TEMOIN (A1), CERVEAU TRAITES PAR LES PESTICIDES (A2) UNE TACHE BLANCHE QUI SIGNIFIE QUE IL EXISTE DES LESIONS CEREBRALES AVEC UNE STRUCTURE ANORMALE PAR REPORT AU TEMOIN, CERVEAU DE SOURIS DISSEQUE (A3) UNE HEMORRAGIE INTERNE A ETE OBSERVEE SOUS LE MICROSCOPE DE LA DISSECTION.	35

FIGURE 22. PHOTOGRAPHIE ORIGINAL DE CERVEAU PRESENTE UNE TACHE ROUGE C2 QUI UN ŒDEME AU NIVEAU DE CERVEAU TRAITÉ PAR RAPPORT AU TEMOIN C1 AUCUNE TACHE A ÉTÉ REPRÉSENTÉ.....	36
FIGURE 23. A1 PRESENTE UNE STRUCTURE NORMALE DE L'HIPPOCAMPE, A2 PRESENTE UNE STRUCTURE EN CERCLE DE L'HIPPOCAMPE.....	37
FIGURE 24. COUPE HISTOLOGIQUE DU CERVEAU MONTRANT LA PRESENCE DE VAISSEAUX NORMAUX ET (D1 ET D2) (×4) LA PRESENCE DE D'HALO CLAIR, PRESENCE D'HALO CLAIR PERIVASCULAIRE DANS (C1, C2) (×G4).....	38
FIGURE 25. LÉSIONS MICROSCOPIQUES DE L'HIPPOCAMPE INDUITES PAR LE TRAITEMENT AU DES PESTICIDES GLYP ET CPR.....	39
FIGURE 26. L'EXAMEN DU CERVEAU DE SOURIS TRAITÉES A RÉVÉLÉ LA PRESENCE D'ŒDEME DANS LE CERVELET (FLECHE NOIR).....	40
FIGURE 27. PRESENTE LES CELLULES ANORMALES LA NEURODÉGÉNÉRESCENCE DES CELLULES DE PURKINJE (G × 20).....	41
FIGURE 28. COUPE HISTOLOGIQUE DU CERVEAU MONTRANT LES CELLULES DE PURKINJE DU CERVELET DES SOURIS TRAITÉES AVEC CPF ET GLYP A (G20). DIMINUTION DU NOMBRE DE CELLULES. 'FLECHE NOIRE CONGESTION ET NECROSE DES CELLULES GRANULEUSES. ..	41

Liste des tableaux

TABLEAU 1. CARACTÉRISTIQUES DES GÉNÉRATIONS DE TÉLÉPHONIE MOBILE	3
TABLEAU 2. CLASSIFICATION DE CERTAINES PESTICIDES ET LEURS MODES D'ACTION	9
TABLEAU 3. LES DIFFÉRENTS MATÉRIELS ET ÉQUIPEMENTS DE LABORATOIRE. ERREUR ! SIGNET NON DÉFINI.	
TABLEAU 4. PROPRIÉTÉS PHYSICOCHIMIQUES DES DEUX PESTICIDES UTILISÉS	22
TABLEAU 5. LES MODIFICATIONS OBSERVÉES CHEZ LES SOURIS TRAITÉES AVEC DU CPF ET GLYP.	34

Liste des abréviations

AChE : Acétylcholinestérase.
AChE-Er : Acétylcholinestérases-Erythrocytaires
ALT : Alanine Amino transférase.
AST : Aspartate Amino transférase.
Bcl- XL: *B-cell lymphoma- extra large*.
Bcl₂ : *B-cell lymphoma*.
CA : Corne d'Ammon.
CaMKII : Calcium/Calmoduline-Dépendent Protéine Kinase II.
CEM : Champ Electromagnétiques.
CPR : Chlorpyriphos.
DAS : Débit d'Absorption Spécifique.
DG : Gyrus denté.
DL50 : Dose létale 50.
E : Eosine.
EEG: Electroencéphalogramme.
ERK : Kinases Régulées par Signal Extracellulaire.
G-6-P-D: Glucose-6-phosphate Déshydrogénase.
GGT: Gamma-Glutamyl Transférase.
GHz: Giga Hertz.
GLYp: Glyphosate.
GSM : Globale Système Mobile.
H : Hématoxyline.
HF-EMF: Champ Electromagnétique à Haute Fréquence.
Hsp: Protéines du Choc Thermique.
Hz : Hertz.
ICNIRP: Institut National de Protection Contre des Ondes non Ionisantes.
IP : Intra Péritonéale.
KHz: kilo Hertz.
L (L-VDCC): Voltage-dépendent calcium channel.
MAP: *Mitogen-Activated Protein*.
MEK : *Mitogen-Activated Kinase*.
MHz : Mega Hertz.
NMDA: N-méthyl-D-aspartate.
OMS : Organisation Mondiale de Santé.
OP: Organophosphorés.
P38: Protéine 38.
RF: Radiofréquence.
W: WATT.

Introduction

Introduction

La neurotoxicité peut être définie comme la capacité des agents chimiques, biologiques ou physiques d'induire un état de dysfonction nerveuse temporaire ou persistant ou encore, une altération de la structure chimique ou physique du système nerveux central et ou les nerfs périphériques (**Lucio et al., 2008**).

Parmi les substances neurotoxiques les plus connues, on retrouve plusieurs métaux, dont le plomb, le mercure, l'aluminium, des solvants industriels (**Lucio et al., 2008**), ainsi que des composés organiques de synthèse comprenant des pesticides (**Iwa et al., 2015**), et les champs électromagnétiques émis par les téléphones mobiles (**Croft et al., 2008**).

Au cours des dernières décennies, l'utilisation croissante des ondes électromagnétiques a engendré une prolifération de nouvelles applications créant une véritable révolution, en particulier dans les domaines liés aux communications sans fil. La téléphonie mobile a connu une diffusion rapide et massive, engendrant une exposition croissante des personnes aux ondes électromagnétiques (**Moulder et al., 2006**).

De nombreuses craintes sont aujourd'hui formulées quant à la nocivité des champs de radiofréquences émis par les téléphones portables sur la santé. Etant donné que la tête et la peau sont les organes les plus exposés, la circulation sanguine cérébrale, et l'activité électrique du cerveau sont spécifiquement concernées (**Elsa et al., 2006**). Notre téléphone mobile occupe une grande place dans notre vie. Nous l'avons sur nous tous le temps il nous accompagne partout quelle que soit l'heure ou la destination.

Les produits phytosanitaires jouent un rôle important dans l'agriculture. En protégeant les cultures contre les bio-agresseurs (maladies, mauvaises herbes, insectes ravageurs...), ils permettent d'accroître, de stabiliser les rendements et d'assurer une qualité de production. Ils sont à l'heure actuelle le seul outil d'optimisation qui soit efficace. Ils sont devenus un enjeu économique et sanitaire important.

Cependant, leur utilisation intensive peut avoir des répercussions négatives sur l'environnement, sur les organismes non-ciblés et notamment sur la santé humaine (**Kathleen et al., 2010; Ludmila et al., 2014**). En effet nous consommons quotidiennement des pesticides dans nos aliments (fruits, légumes, lait...).

Ainsi, l'objectif principal de ce travail est d'évaluer les effets neurotoxiques des ondes du portable et des pesticides, utilisés dans l'agriculture sur des modèles murins (souris).

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Partie : Les ondes du téléphone portable

1.1. Le téléphone portable

Les téléphones mobiles sont des émetteurs/récepteurs qui communiquent avec les antennes-relais. Les données sons ne sont pas transmises directement, la voix est codée puis resynthétisée au niveau de la réception. La transmission se fait par ondes électromagnétiques avec un réseau spécifique (OOREDOO, DJEZZY, MOBILIS).

Nous pouvons donc communiquer de tout lieu où une antenne de relais capte les émissions de l'appareil utilisé. Ces émissions sont émises par impulsion (et non continu) à une fréquence dite de répétition.

Les télécommunications sans fil, utilisent les ondes électromagnétiques dans le domaine spectral des radiofréquences comme support pour transmettre des informations (voix, donnée, etc...). Les radiofréquences sont des champs électromagnétiques dont la gamme de fréquence est comprise entre 9 kHz et 300 GHz (Guénel et al., 2003).

Aujourd'hui, les téléphones mobiles utilisent principalement trois technologies dans les différents domaines de fréquences (Tableau 1).

Tableau 1. Caractéristiques des générations de téléphonie mobile (Elsa et al., 2006).

Fréquences	Standards	Fonctionnement
1G 900 MHz	Etats-Unis : AMPS Europe : TACS	Fonctionnement analogique Réseaux cellulaires
2G Europe 900 / 1800 MHz	GSM	Fonctionnement numérique Transmission - voix -(SMS; MMS)
3G 1885 – 2025 MHz 2110 – 2200 MHz	UMTS	Fonctionnement numérique Haut débit de transmission : - multimédias - Internet
4G Europe 800, 1800 et 2600 MHz Etats-Unis 700 MHz et 1700- 2100 MHz	LTE	Fonctionnement numérique Très haut débit de transmission

Un téléphone GSM peut émettre jusqu'à une puissance maximale de 2W en GSM 900, 1W en GSM 1800 pendant un appel, dans les meilleures conditions de réception, la puissance peut-être mille fois inférieure (de l'ordre de 0,001 W) (Preece et al., 1999).

1.2. Le débit d'absorption spécifique

Les grandeurs utilisées liées à la pénétration des rayonnements dans le corps humain sont difficilement mesurables en pratique. Pour les radiofréquences on utilise le débit d'absorption spécifique DAS en watt par kilogramme (W/kg) soit la puissance absorbée par le corps par unité de masse de tissu (Hadjem et al., 2010).

Cependant, l'évaluation de l'exposition aux radiofréquences est encore compliquée vis-à-vis de la forte dépendance du DAS à divers facteurs géométriques, morphologiques, etc. Plusieurs publications montrent que l'exposition RF et en particulier le DAS induit dans les tissus biologiques dépendent fortement de plusieurs paramètres associés au modèle de téléphone (sa géométrie, la fréquence et son mode d'utilisation) (Hadjem et al., 2010) et d'autres paramètres liés au modèle de corps humain (morphologie, posture,...) (Costa et al., 2003).

Cependant l'absorption dépend également des dimensions et de l'orientation du grand axe du système par rapport au champ électrique (**Figure 1**). L'énergie électromagnétique est préférentiellement absorbée pour certaines fréquences. Cette particularité est responsable de la sensibilité préférentielle de certains organes pour certaines fréquences, ainsi la rétine et cristallin seront plus sensibles à un champ de 9 GHz, les organes creux tel que l'estomac ou l'intestin grêle à un champ de 3 GHz, système nerveux central entre (300 Hz à 1 MHz), les tissu riche en eau les liquides biologiques (sang, liquide cephalo-rachidien, etc...) absorbent plus que les os qui contiennent peu d'eau (Andrea et al., 2003).

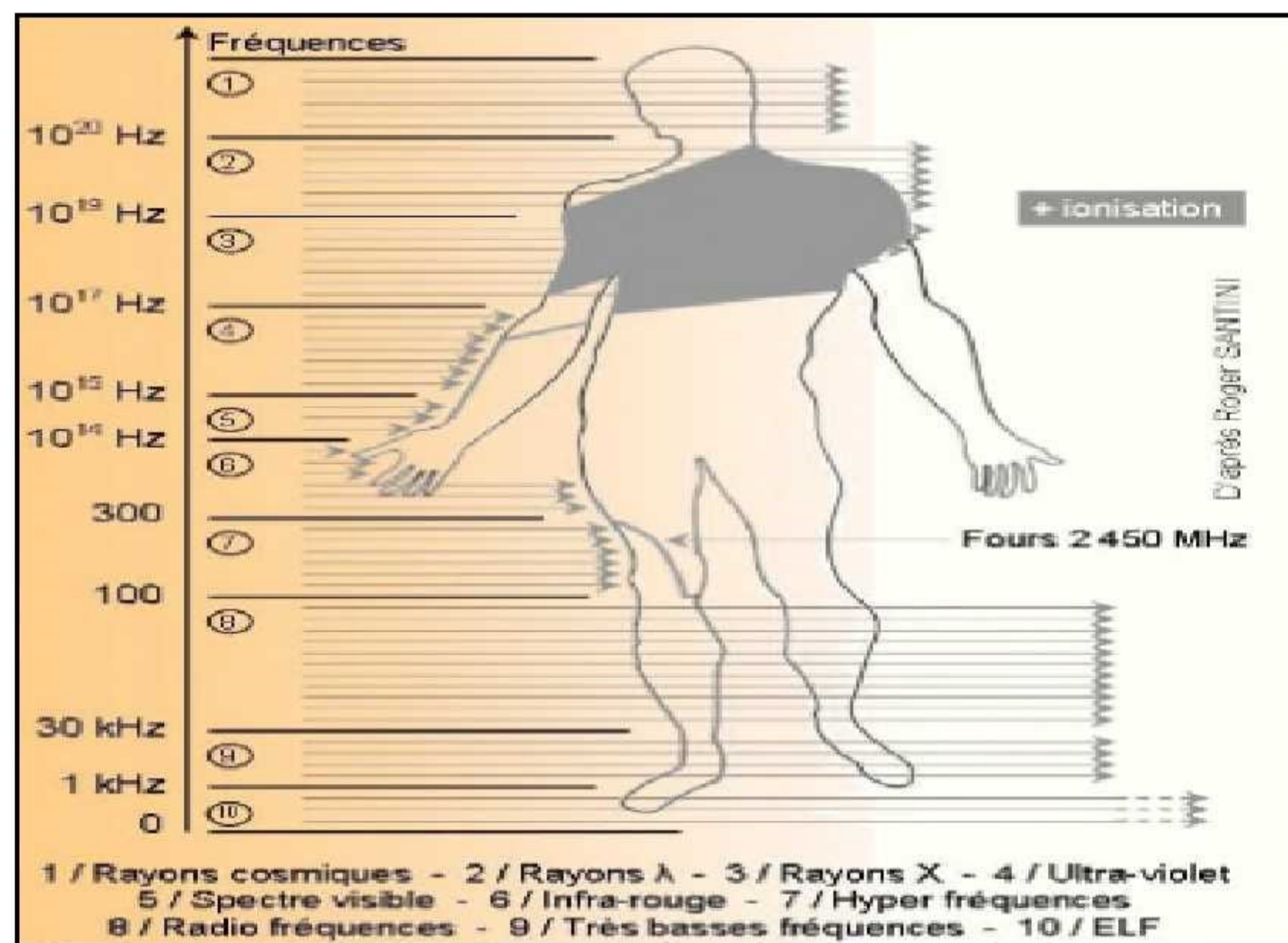


Figure 1 : Pénétration des ondes dans le corps humain en fonction de leurs fréquences.

1.3. Interactions des champs RF avec les systèmes biologiques

Les interactions des champs HF avec les systèmes biologiques peuvent induire des effets potentiellement délétères pour l'organisme. Dans le domaine des interactions des ondes avec les personnes, les limites ont été recommandées par l'ICNIRP (Institut National de Protection Contre des Ondes non Ionisantes) qui dépend de l'organisation mondiale de la Santé (OMS).

1.3.1. Pénétration des ondes RF dans le système biologique

La matière vivante est un matériau inhomogène, diélectrique, mauvais conducteur. Lorsqu'un tissu biologique est soumis à un champ RF, seule une partie du champ est absorbée par le système, l'autre étant réfléchi ou transmise (Figure 2). C'est cette partie absorbée qu'il est important de quantifier et qui a priori peut être à l'origine d'effets biologiques (Schmid and Schrader, 2007)

Le rayonnement qui pénètre dans le tissu est absorbé plus ou moins rapidement en fonction des constantes diélectriques (permittivité électrique et la perméabilité magnétique) de la matière traversée ainsi que de la longueur d'onde du rayonnement et la teneur en eau. Plus la longueur d'onde est grande plus l'onde pénètre ; plus le tissu a une conductivité électrique importante plus l'onde est réfléchi et moins elle se propage dans le système (Sèze, 2002).

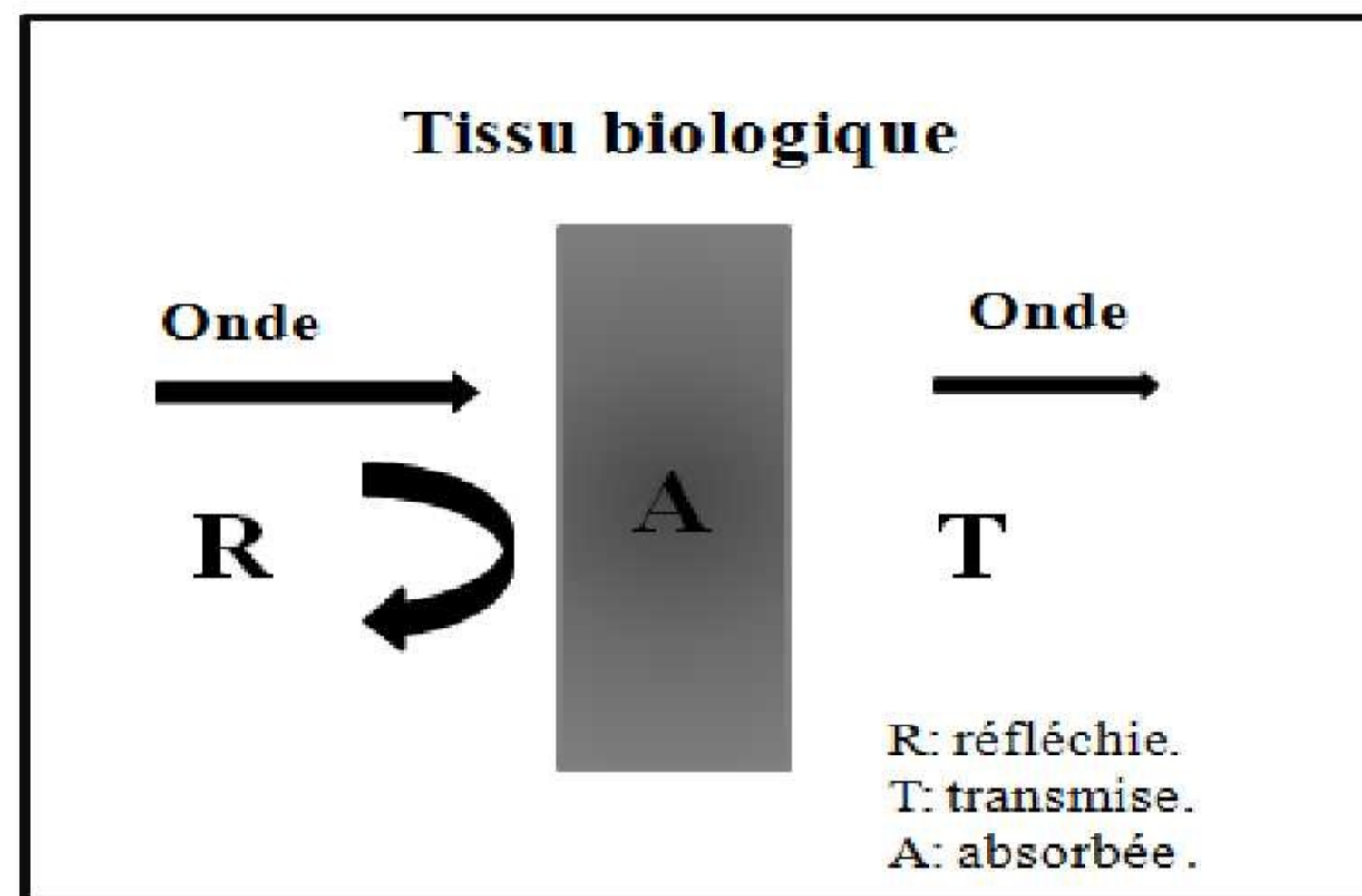


Figure 2 : Comportement d'une onde électromagnétique.

1.3.2. Effets biologiques des RF

Un effet biologique survient lorsqu'un changement peut être mesuré dans un système biologique après l'introduction de certains types de stimuli. Cependant, l'observation d'un effet biologique, en soi, ne suggère pas nécessairement l'existence d'un risque biologique ou d'un effet sur la santé. Un effet biologique ne devient dangereux qu'en cas de «détérioration détectable de la santé de l'individu ou de sa progéniture» (Lang, 2006).

Les effets biologiques pourraient être des changements physiologiques, biochimiques ou comportementaux induits dans un organisme, un tissu ou une cellule. Les RF interagissent généralement avec les tissus à travers la génération de chaleur. Les dangers dépendent de la capacité de pénétrer dans le corps humain et les caractéristiques d'absorption des différents tissus. Le mode de fonctionnement des RF absorbées par les molécules d'eau est d'agiter les liaisons hydrogènes, ce qui produit alors un réchauffement moléculaire (Islam, 2017).

Il est possible de différencier 3 grandes catégories d'effets biologiques : les effets thermiques, les effets non thermiques et les effets indirects (Kwan, 2003).

1.3.2.1. Les effets thermiques

Les effets biologiques résultant du chauffage des tissus par rayonnement RF sont appelés effets «thermiques».

Le corps humain a des moyens efficaces de réguler sa température, mais si les expositions sont trop intenses, l'organisme humain ne fait plus face. Cependant, dans l'étude d'Ohtani et son équipe (2016), les effets thermiques étaient significativement élevés à une exposition de 6 heures par jour, en particulier dans le cervelet que dans le corpus cérébral, ce qui peut être dû à la variation de la régulation thermique dans chaque partie du cerveau lors de l'exposition RF.

Le système biologique était thermo-régulé suite à l'augmentation de l'expression génique des protéines du choc thermique Hsp (Hsp40, Hsp60, Hsp70 et Hsp90) qui jouaient un rôle significatif dans la résistance à la chaleur (**Ohtani et al., 2016**).

1.3.2.2. Les effets non thermiques

Une grande partie du débat actuel porte sur des niveaux relativement faibles d'exposition aux rayonnements RF provenant des téléphones mobiles et des stations de base produisant des effets non thermiques. Certaines expériences ont suggéré qu'il pourrait y avoir des effets biologiques à des niveaux d'exposition non thermiques, mais la preuve de la production de danger pour la santé est contradictoire et non prouvée (**Carlberg and Hardell 2017**). La communauté scientifique et les organismes internationaux reconnaissent que d'autres recherches sont nécessaires pour améliorer notre compréhension sur les effets non thermiques (**Anne et al., 2004**).

1.3.2.3. Les effets indirects

Les RF du téléphone portable peuvent avoir des effets indirects. En outre, des interférences de radiofréquences avec les stimulateurs cardiaques sont théoriquement possibles. Il s'agit d'un problème de compatibilité électromagnétique, compliqué par l'environnement biologique que constitue le corps du patient. A une distance inférieure à 10 cm entre un radiotéléphone et un stimulateur cardiaque, seules des perturbations mineures ont cependant pu être enregistrées (**Kainz et al., 2005**).

1.4. Champs RF et effets sanitaires

Un effet sanitaire n'intervient que lorsque les effets biologiques dépassent les limites d'adaptation du système biologique considéré. Il sort du cadre des réponses adaptatives physiologiques, de l'homéostasie, sous l'action de l'agent extérieur (**Andrea et al., 2003**).

1.4.1. Les effets spécifiques des RF sur le système nerveux central

Chez les humains, la leucémie infantile et le cancer du cerveau revêtent une importance particulière pour les champs électromagnétiques (EMF) (**Kheifets et al., 2005, Mezei et al., 2008, Li et al., 2009, Saito et al., 2010**). L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a proposé une enquête sur le développement du système nerveux concernant l'exposition des animaux aux champs de radiofréquence (RF) (**Ateliers OMS 2004, Kheifets et al., 2005**). Parce que lors d'une communication, l'appareil se trouve à 1 cm de notre cerveau porté à l'oreille, deux organes d'une sensibilité extrême. L'oreille possède une structure interne, le vestibule, qui est le gyroscope du cerveau. Un nombre important d'utilisateurs de téléphones portables ont des problèmes de maux de tête, de vertiges et une incapacité à bouger suggèrent que l'effet biologique de l'EMF pourrait être sur le cerveau (**Brillaud et al., 2007**). Chez l'homme, les signaux GSM ont une influence sur l'activité cérébrale (**Reister et al.,**

1995). Chez la souris, une exposition au champ électromagnétique à haute fréquence (HF-EMF) a provoqué une augmentation de l'activité corticale et hippocampique du cerveau (**Barcal et al., 2007**). Certaines études rapportent un effet identifiable de l'exposition à 900 MHz à partir de téléphones mobiles sur électroencéphalogramme (EEG). L'étude de D'Costa et al. (2003) a déterminé l'effet des émissions de CEM sur le téléphone portable sur l'EEG humain. Regel et al. (2007) ont montré que le changement d'EEG du sommeil résultait de l'influence de l'exposition aux CEM de signaux variables.

Partie : Effet des pesticides

Le terme pesticides dérive du suffixe « -cide » qui signifie étymologiquement « tuer » et de la racine « pest » désignant tout organisme vivant (virus, bactéries, champignons, herbes, insecte vers, animale) qui d'être nocif à l'homme et son environnement chimiques.

1.5. Classification des pesticides

Le monde des pesticides est caractérisé par une variété de structure chimique, de groupes fonctionnels et d'activité que leur classification assez complexe. Une manière générale, ils peuvent être classés en fonction de la nature de l'espèce à combattre mais aussi en fonction de la nature chimique de la principale substance active qui les compose et selon leurs cibles (**Tableau 2**). La grande diversité des cibles s'accompagne d'une grande variété de modes d'action, aussi bien entre les différentes catégories de pesticides qu'à l'intérieur même de ces catégories, en lien avec leurs propriétés physicochimiques, et donc toxicologiques (**Afsset et al., 2010**). Il n'existe pas de relation univoque simple entre une famille chimique et les propriétés des molécules qui la composent, celles-ci dépendent à la fois de leur composition élémentaire et de leur structure (**Calvet, 2005**). Il en découle que certaines familles chimiques de pesticides peuvent contenir des substances ayant des cibles différentes, par exemple, les carbamates peuvent être insecticides, herbicides ou fongicides. De plus, il peut exister une certaine variabilité dans le choix de la classification d'une substance ainsi le tableau suivant détermine la classification de certaines pesticides :

Tableau 2 : Classification de certaines pesticides et leurs modes d'action (Ben Oujji, 2012)

La classe	La famille chimique	certaine famille chimique	mode d'Action
Insecticides	organochlorés	DDT, aldrine Lindane.....	Perturbation de la division cellulaire Paralysie et la mort, blocage de la tubuline et microtubules, il est neurotoxine qui interfère avec la fonction de neurotransmission du GABA en interagissant avec le récepteur GABA _A - la chaîne chlorure forme un complexe avec le site de fixation de

Insecticides	organochlorés	DDT,aldrine Lindane.....	la <u>picrotoxine</u> ,elle peut être un agent cancérigène ou perturbateur endocrinien, atteint principalement le système nerveux, et influence sur les récepteurs d'estrogène.
	organophosphorés	Paration Diazinone Malathion	Neurotoxique, la phosphorylation et l'inhibition de certaine protéine, perturbation des voie métabolique, peuvent phosphoryle une protéine du système nerveux central.
	carbammates	Carbaryl aldicarbe	problèmes sur la fonction de la reproduction et de stérilité masculin non seulement ça il existe aussi des effets sur le développement de fœtus et des ébauche embryonnaire, en inhibant la cholinestérase, perturbant la formation et le fonctionnement du fuseau chromatique.
herbicides	Les Triazines	Atrazine	Agir sur la photosynthèse , l'inhibition de la synthèse des acides aminés, l'inhibition de la division cellulaire à la métaphase, la dérégulation des pH entre les différents compartiments cellulaires ou découplant .
	Les dérivés des pyridines	Paraquat	lésions dégénératives du SN analogues à celles de la Parkinson. Inhibe le développement et le fonctionnement du cerveau et de la moelle épinière en bloquant la division de cellules souches du SN central.

Herbicides	Les urées substituées	Dinron	Inhibiteur de la photosynthèse.
	Les acides organiques	Glyphosate	Il influence sur la libération et le métabolisme du glutamate, la perturbation de la croissance de cerveau, l'inhibition de la synthèse des acides aminés, apparition de certaines maladies neurodégénératives.
Fongicides	Fongicides à base de métaux (Cu, Fe..), thio et thioloprives.	Penlchlorophénol (PCP)	Inhibition des enzymes clés des voies métaboliques comme le cycle de Krebs, glycolyse, inhibition de l'oxydation du glucose, inhibition de la synthèse d'acide nucléique, inhibition de la dégradation des acides gras, peuvent perturber la division cellulaire et nucléaire, qui agissent sur la respiration mitochondriale.

1.6. Pesticides et gène

Malgré leur apport dans la protection des plantes, l'utilisation des pesticides biologiques est sûre et donc des grands risques n'ont pas été remarqués et qu'ils font courir aux organismes. Les études récentes font apparaître que certaines pathologies endocrines, néoplastiques, neurodégénératives, pourraient être liées à des expositions chroniques à ces molécules et que cette dernière influence directement sur les gènes, certains gènes sont touchés, des lésions de l'ADN ont été mises en évidence des mutations sur différents gènes.

Certains pesticides provoquent aussi un accroissement de la fréquence d'échanges de chromatides sœurs sur les cellules de mammifères ainsi que d'aberrations chromosomiques, qui provoquent aussi une cytotoxicité, un stress oxydant significatif et une génotoxicité (exemple : produit chimique des organophosphorés) (Kalender et al., 2010). Certains pesticides influencent les récepteurs et réagissent comme des neurotransmetteurs et bloquent leur activité, des aberrations chromosomiques ont été observées et même peuvent provoquer des lésions cérébrales des troubles neurologiques qui bloquent l'influx nerveux et qui peuvent donner et induire des maladies neurodégénératives, des anomalies sous-jacentes se traduisent par une réduction de l'activité de la protéine Wnt qui est responsable de la

transduction de signalisation qui joue un rôle très importants dans le développement embryonnaire (le cas des herbicides glyphosate) .Ces molécules interagissent de plus avec de nombreux récepteurs nucléaires/hormonaux. De nombreux composés organochlorés, pyréthriinoïdes, organophosphorés, activent en particulier le récepteur nucléaire PXR induisant les CYP et autre Après fixation sur ce récepteur, cette substance chimique dérégule en particulier l'expression de gènes impliqués dans le métabolisme des xénobiotiques et les voies de signalisation liées au stress ou à la mort cellulaire (**Moor et al., 2010**). certaines pesticides aussi jouent un rôle comme des activateurs du récepteur nucléaire . De plus, des études montrent que les pesticides diminuent la quantité des cellules de la moelle osseuse, des granulocytes progénitures de macrophages et des cellules souches pluripotentes de la moelle osseuse (**Costa et al., 2008**) , comme elle peut active ou bloque les différentes molécules et différentes voie de signalisation, par exemple certaines pesticides induisent la surexpression des molécules des protéines anti-apoptotiques (exemple : Bcl-2 et Bcl-Xl chez l'Homme (**Aldridge et al., 2004**)).

1.7. Les mécanismes moléculaires des organophosphores et les herbicides sur le cerveau

1.7.1. Effet des herbicides

Bien que l'herbicide soit déjà montré comme pouvant affecter à la fois la mémoire des personnes et des troubles neuronales, de nouvelles recherches ont contribué à élucider les mécanismes sous-jacents de ses effets toxiques et qui provoque des dommages oxydatifs, augmente le risque d'incidence de la maladie de Parkinson et de la maladie d'Alzheimer et pourrait également accélérer la neurodégénération liée à l'âge (**Jokanović et al., 2011**). L'utilisation des molécules actives à effet herbicide, le glyphosate a provoqué une réduction significative de taille des axones qui induit une neurotoxicité et même provoque des lésions cérébrales comme les lésions oculaires des nécrose et l'exposition au glyphosate induit une différenciation axonale initiale, un manque d'activité de protéine Wnt. Les formulations d'herbicides induisent une apoptose et une nécrose dans les cellules ombilicales humaines, embryonnaires et placentaires. L'herbicide est également associé à l'induction du stress oxydatif et de la neuroinflammation.

En outre, le glyphosate a été capable de provoquer un stress oxydatif dans certaines régions cérébrales spécifiques: cortex cérébral et hippocampe. Cependant, la plupart de ces études ont été réalisées en utilisant des formulations et un grand effet sur hippocampe.

1.7.1.1. Le mécanisme moléculaire d'herbicide glyphosate sur hippocampe

Le pesticide glyphosate provoque l'afflux de Ca^{2+} en activant les récepteurs NMDA et les canaux Ca^{2+} dépendants de la tension de type L (L-VDCC) () déclenchant le stress oxydatif et la mort cellulaire. Les mécanismes sous-jacents à la neurotoxicité (glyphosate) impliquent l'activation de la protéine kinase II (CaMKII) dépendante de Ca^{2+} / calmoduline et de la kinase extracellulaire régulée par le signal (ERK) (Cattani *et al.*, 2014). Les astrocytes jouent un rôle clé dans l'élimination du glutamate de la fente synaptique et le métabolisent à la glutamine, qui sert de précurseur de glutamate dans les neurones le glyphosate a réduit l'absorption de glutamate et le métabolisme dans les cellules gliales, associée à une libération accrue de ce neurotransmetteur dans la fente synaptique et conduit à une inhibition de l'activité enzymatique de la glutamine synthétase, de l'aspartate aminotransférase (AST) et de l'alanine aminotransférase (ALT) (Coullery *et al.*, 2016). L'absorption de glutamate ou son métabolisme est altérée dans les astrocytes hippocampique exposés à l'herbicide. En outre, glyphosate a réduit les taux de GSH et augmenté les quantités d'espèces réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS), caractérisant les dommages oxydatifs. L'exposition au pesticide a diminué l'activité de la gamma-glutamyl transferase (GGT) et de la glucose-6-pho

osphate déshydrogénase (Coullery *et al.*, 2016). L'inhibition de GGT induite par glyphosate pourrait diminuer la disponibilité des acides aminés pour la synthèse de novo de GSH et la diminution de l'activité de G6PD peut réduire les niveaux de NADPH, nécessaires pour réduire le glutathion donc le glyphosate pourrait conduire à des niveaux excessifs de glutamate extracellulaire et par conséquent à un état excitotoxique et à un déficit énergétique dans l'hippocampe (Cattani *et al.*, 2014).

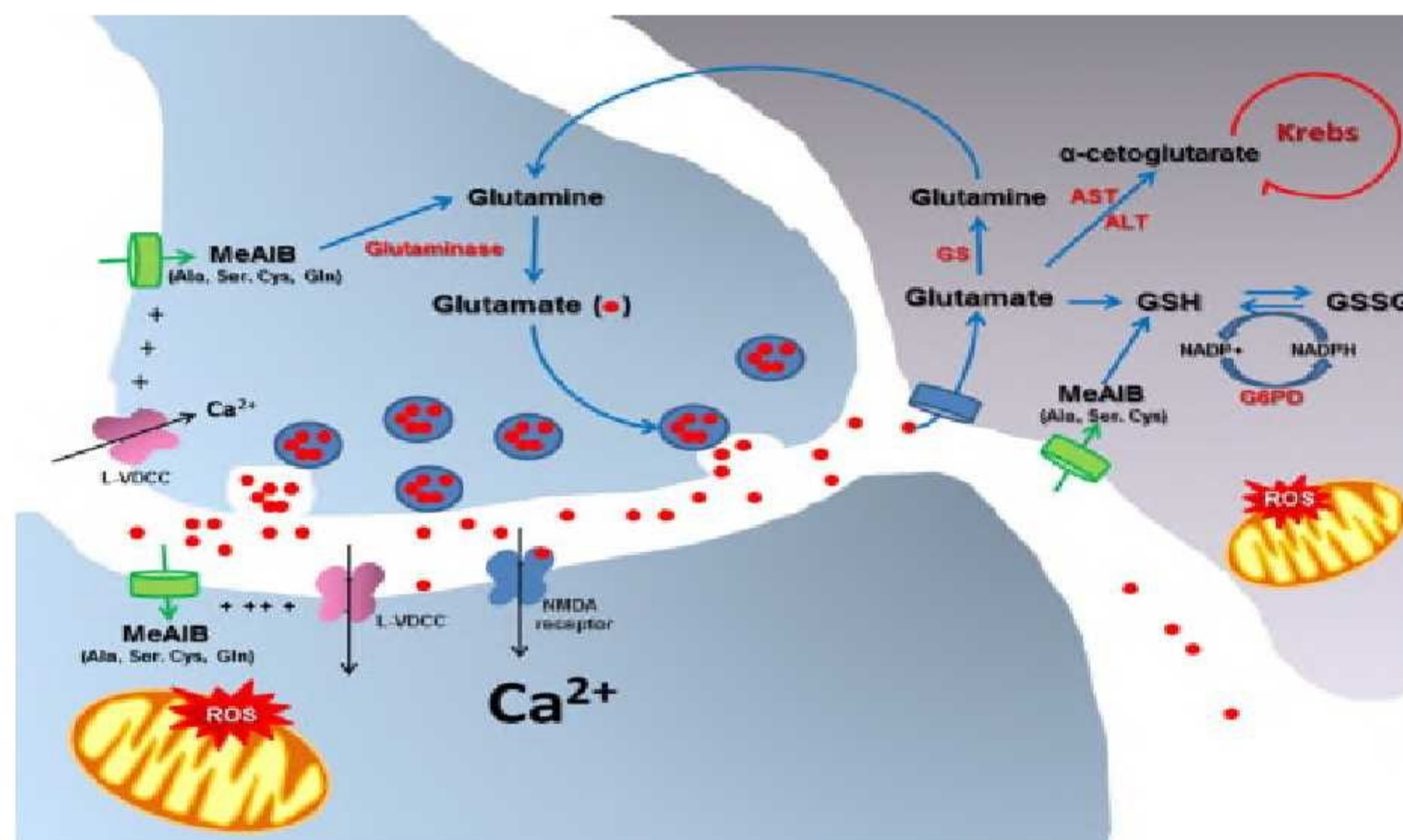


Figure 3 : Mécanismes moléculaires Glyphosate sur hippocampe. (Cattani *et al.* 2014).

1.7.1.2. Mécanisme moléculaire des organophosphorés

Les Organophosphorés (OP) tels que les chlorpyrifos sont des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChE), une voie enzymatique clé responsable de la transmission de plusieurs types de cellules neuronales à travers les synapses. En conséquence, l'inhibition chimique d'AChE entraîne une accumulation de récepteurs post-synaptiques d'acétylcholine et une hyper-stimulation, ce qui conduit à des aberrations physiologiques allant de l'altération comportementale à la mort (**Jokanović et al., 2011**). Le mécanisme moléculaire de AChE sur le cerveau permet une échelle des activités et des différentes modifications sur les neurones et leurs rôles sur le système nerveux et même sur les neurones qui ont changé leurs activités et des fois même ils deviennent sans effets. Les OP, très lipophiles, franchissent aisément toutes les barrières biologiques et se fixent de façon covalente aux cholinestérases de la jonction synaptique des fibres du système nerveux central. Ils se fixent également aux acétylcholinestérases érythrocytaires (AChE-Er)) (**Smit et al., 2003**). Il s'agit d'une véritable lésion biochimique puisque les OP viennent occuper, en le phosphorylant, le site estérasique de l'enzyme, s'opposant ainsi à l'hydrolyse physiologique de l'acétylcholine en choline et en acide acétique (**McCormack et al., 2005**). La déphosphorylation de l'enzyme inhibée par l'OP est très lente ; dans un deuxième temps, la phosphorylation devient irréversible par déalkylation. C'est le phénomène de vieillissement de l'enzyme qui devient, d'une part, non fonctionnelle et, d'autre part, non réactivable comme elle peut être réversible dans certains cas (**McCormack et al., 2005**).

Dans ce cas, c'est la synthèse de nouvelles cholinestérases qui permettra le retour à une activité fonctionnelle normale. Le résultat de l'inhibition de l'influx nerveux au niveau des ganglions du système nerveux autonome et de la jonction neuromusculaire (récepteurs nicotiniques), des fibres post ganglionnaires du système parasympathique (récepteurs muscariniques, inhibés par l'atropine) et du système nerveux central (**Jokanovic et al., 2006**) les organophosphorés provoquent une transmission permanente de l'influx nerveux, causant de nombreuses anomalies telles que la paralysie et même la mort. Les OP peuvent induire l'apoptose dans les neurones corticaux primaires cultivés, le chlorpyrifos active les kinases MAP ERK1 / 2 et p38 par la suite le blocage de l'activation ERK1 / 2 par l'inhibiteur MEK a provoqué une inhibition de certaines molécules tout en bloquant la p38, une apoptose fortement accélérée induite par le chlorpyrifos.

Cela suggère un rôle pro-anti-apoptotique pour ERK1 / 2 et p38. Donc leur mécanisme d'action neurotoxique implique l'inhibition de l'AChE. Cette inhibition se réalise lorsque les organophosphorés vont se fixer sur le groupe hydroxyle de la serine du site actif de l'AChE, ce qui empêche la liaison de cette enzyme avec l'acétylcholine.

L'AChE (**Colosio et al., 2003**) est une enzyme estérase nécessaire au fonctionnement des extracellulaires hydrolyse en quelques millisecondes l'acétylcholine libre dans la fente synaptique, en

acétate et choline. Elle fournit un des moyens de mettre un terme à l'activation des récepteurs cholinergiques (**Moreno et al., 2008**). L'inhibition de l'AChE provoque une accumulation de l'acétylcholine libérée dans la fente synaptique lors d'une stimulation nerveuse, menant à une hyperstimulation des récepteurs cholinergiques. En conséquence, le passage de l'information nerveuse est perturbé jusqu'au non fonctionnement des synapses (si la sur-stimulation est suffisante), ce qui peut mener à l'apparition de divers troubles nerveux pouvant aller jusqu'à la mort de l'individu (**Lotti et al., 2005**).

Chapitre II : Matériel et méthodes

1.8. Matériel

1.8.1. L'élevage

Dans la présente étude, nous avons utilisé des souris albinos (BALB/C) mâles et femelles (**Figure 4**), les souris à leur arrivée étaient âgées de deux semaines d'un poids variant entre (20 à 24g) provenant de l'institut Pasteur d'Alger.

Les souris mâles et femelles ont été logés séparément dans des cages standard en plastique (polypropylène), dans une pièce maintenues à (27 ± 2 °C) grâce à un climatiseur, avec un cycle lumière / obscurité de 12h/12 h, la litière utilisée est la sciure de bois est renouvelée chaque jours pour assurer le bon état hygiénique des animaux. Elles reçoivent de la nourriture de bétail a base de maïs et de soja fournis par l'ONAB d'El kseur, Béjaia, et de l'eau minéral de façon continue.

Après une adaptation de 3 semaines aux conditions de l'animalerie de la faculté de médecine – Bejaia, les souris ont été pesées, et repartis en 2 groupes (1 groupe de 12 mâles pour le protocole des pesticides et 1 groupe de 14 femelles pour exposition aux ondes).



Figure 4 : Photographie des souris utilisées dans cette étude.

1.9. Procédure expérimentale

1.9.1. Test de neurotoxicité des ondes émises par le téléphone portable

L'étude expérimentale de l'effet neurotoxique du champ RF du téléphone portable a été réalisée selon la méthode décrite par Ragbetli et ces colaboration avec quelque modification. Le système d'exposition consistait à exposer des souris au champ RF dans une chambre en polystyrène et en bois (

Figure 5), que nous avons-nous même fabriquées, dans le but de reproduire la pièce du système d'exposition (Ragbetli et *al.*, 2009).

1.9.1.1. Système d'exposition

La chambre d'exposition a été fabriquée dans un seul but de produire la chambre anéchoïque utilisée lors de l'exposition. L'ensemble des expérimentations ont été réalisées au sein d'une chambre. Il s'agit d'une enceinte en bois tapissée de polystyrène absorbant évitant la réverbération des ondes électromagnétiques et ainsi permettant d'avoir un champ uniforme au niveau de la cage de souris (

Figure 5). Cette chambre est de taille suffisante (dimensions extérieures : 1,20*1,10*1 m), pour permettre une exposition en champs lointains pour les deux fréquences employées. Les chambres sont ventilées de manière à maintenir la température constante.

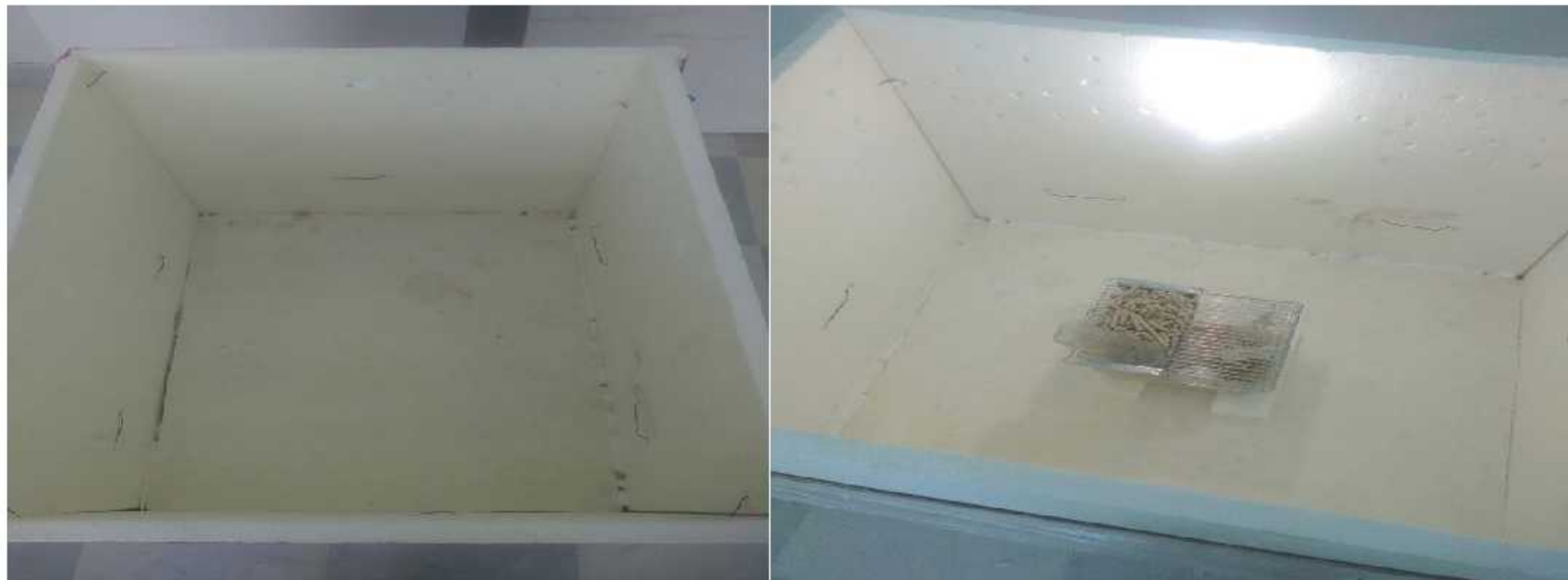


Figure 5 : Photographie de la chambre utilisée dans cette étude.

Un téléphone mobile avec une antenne interne (Samsung) (GSM, 1 à 2 Watt, 900-1800 MHz modulé à une fréquence de répétition d'impulsions de 217 Hz, a été placé sous la cage (**Figure 6**). Un deuxième téléphone mobile a été utilisé pour communiquer en dehors de la salle expérimentale.



Figure 6 : Mise en place d'un téléphone sous la cage

- **Le lot contrôle positif :** Ce téléphone a été utilisé en mode veille pendant 7h et 30 min et en mode conversation pendant 30 min (un total de 8h / jour) et sa continué pendant une période de 30 jours (**Figure 7**).
- **Le lot contrôle négatif :** Sans exposition aux radiofréquences, il a été conservé dans les mêmes conditions, loin de la pièce.

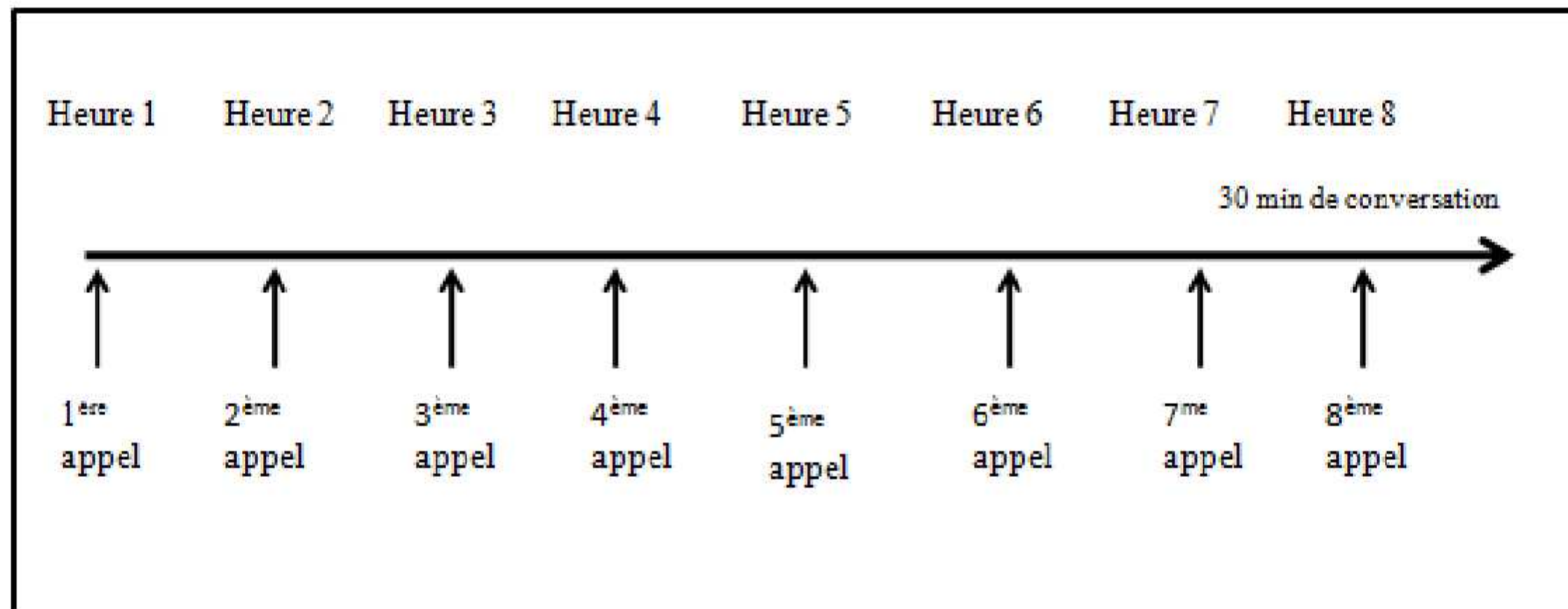


Figure 7 : Protocole d'exposition aux ondes.

3.2.1.1. Tests comportementaux

Les tests comportementaux comprenaient le test de reconnaissance d'objet et test de piscine de Morris pour l'apprentissage et la mémoire de référence.

1.9.1.2. Test de reconnaissance d'objet

Le protocole utilisé est celui décrit en détail par (Lisa et al., 2015), et comprend une séance d'habituation de 50 mn, une séance d'acquisition de 10 mn, et une séance de rétention de 10 mn. Les durées d'exploration des deux objets **a** et **b** sont mesurées durant la séance de rétention (respectivement T (**a**) et T (**b**) et le calcul d'un indice $T_b / (T_a + T_b)$ permet de rendre compte de la performance de reconnaissance. Les résultats obtenus sont présentée dans la Figure 13.

L'appareil pour ce test consiste en une enceinte carrée ouverte en carton (40*40*20 cm) avec un fond en bois (**Figure 8**). Les expériences ont été menées dans une pièce dont la température a été maintenue à $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Le nettoyage de l'enceinte à l'aide d'un papier absorbant trempé dans l'alcool permet de réduire et d'homogénéiser les traces olfactives laissées par les souris après chaque passage dans l'enceinte. Cependant, l'animal qu'est la souris est très probablement capable de détecter des traces olfactives récentes laissées par un congénère, même après nettoyage de l'enceinte. Ainsi, afin que toutes les souris expérimentales, y compris la première, passent le test dans les mêmes conditions, une souris « pionnier » est placée une dizaine de minutes dans l'enceinte au début de chaque jour d'expérience (Lisa et al., 2015).

▪ Objets utilisés

Les objets sont fixés au fond de l'enceinte par des pâtes adhésives (UHU Patafix) et mesurent de 2,4 à 4 cm de haut. Après chaque session, les objets sont trempés dans l'alcool (éthanol 96%), puis séchés afin d'éliminer le plus possible les traces odorantes laissées par les animaux. Les objets (**Figure**

8) utilisés doivent être de couleur, de taille et d'aspect différents a fin de stimuler la curiosité de la souris pour l'exploration de nouveau objet pour la tâche de reconnaissance d'objet nous avons choisis :

Un lego en silicone de couleur rouge et deux dominos à jouer en plastique blanc à points noirs (**Figure 8 B**). Dans chaque groupe expérimental, l'objet familier est le lego pour toute les souris (**Lisa et al., 2015**).



Figure 8 : Photographies de l'enceinte en cartonne utilisée avec la souris (A) et les objets utilisés pour le test de reconnaissance d'objet (B).

1.9.1.3. Déroulement des tests de reconnaissance

▪ Séance d'habituation

Les animaux sont d'abord soumis à une séance d'habituation : pour la tâche de reconnaissance d'objet, la souris est toujours déposée au milieu d'un des côtés de l'enceinte, la tête dirigée vers la paroi. La durée de la séance d'habituation était de 30 mn pour chaque souris.

▪ Séances d'acquisition et de rétention de la tache de reconnaissance d'objet

Le lendemain de la séance d'habituation, l'animal est déposé au même endroit que la veille et explore librement pendant 10 mn l'enceinte ou a été placé un objet **a** (lego rouge). Après un délai dit « de rétention », l'animal est replacé dans l'enceinte durant 10 mn et explore librement les deux objets (**a** et **b**) placés comme indiqué sur la (**Figure 8 A**). Les temps d'exploration de ces deux objets (en secondes) à été mesuré pendant cette séance d'acquisition. Les temps d'exploration de l'objet familier **a** (**Ta**) et de l'objet nouveau **b** (**Tb**) permettent de calculer un indice d'exploration du nouvel objet défini par : $Tb / (Ta + Tb)$.

L'animal explore l'objet lorsque le museau est dirigé vers l'objet et à moins de 1 cm de celui-ci, Il s'agit du temps passé à renifler l'objet : les comportements de mordillement des objets, de passage sur ou à côté de l'objet n'étant pas considérés comme de l'exploration (**Sunita et al., 2010**).

1.9.1.4. Taches dans la piscine de Morris

Le dispositif expérimental du test de la piscine de Morris est constitué d'une piscine circulaire de plastique de 120 cm de diamètre et de 40 cm de hauteur (**Figure 9**) remplie à moitié (20 cm) par de l'eau rendue opaque par l'adjonction de lait en poudre. L'eau est changée quotidiennement. La température relativement basse de l'eau (24°C) confère à ce test un caractère aversif pour l'animal. Une plate-forme, constituée d'un bocal en verre, est disposée à l'intérieur du bassin et reste invisible pour l'animal, car située 1 cm sous la surface de l'eau (**D'Hooge and De Deyn, 2001**).



Figure 9 : Photographies de la piscine utilisée, familiarisation des souris au dispositif de test (A), la piscine rendue opaque pour le test de la mémoire de référence (B).

- **Déroulement du test**

Avant le début du protocole de mémoire de référence, chaque souris est familiarisée au dispositif de test. Le premier jour, elle est déposée pendant 1 min dans le bassin contenant seulement 4 cm d'eau. La souris peut ainsi nager, mais aussi toucher le fond du bassin avec sa queue et/ou ses pattes postérieures (**Figure 9 A**). Comme la plate-forme émergée est visible (1 cm au-dessus du niveau de l'eau) et située à quelques centimètres du bord du bassin, la souris peut la rencontrer et se hisser dessus. Si la souris n'y parvient pas avant 1 mn, elle y est doucement amenée et laissée pendant 30 s, puis ramenée dans sa cage.

Le protocole de mémoire de référence consiste à localiser la plate-forme immergée (**Figure 9 B**) invisible dont la position reste inchangée (ici dans le quadrant Ouest) au cours de 3 jours consécutifs. Chaque souris subit une séance quotidienne de 2 essais (**Figure 10**) séparés par un délai de 10 mn durant lequel l'animal est replacé dans sa cage. L'essai se termine lorsque la souris a atteint la plate-forme, ou bien lorsque 60s se sont écoulées, si la souris ne trouve pas la plate-forme durant les 60 s de l'essai, elle est guidée par l'expérimentateur jusqu'à la plate-forme. Une fois l'animal sur la plate-forme, il y est laissé pendant 30s avant de la ramener jusqu'à sa cage.

Vingt-quatre heures après le dernier essai du protocole de mémoire de référence, la plate-forme est retirée du bassin et les souris subissent un test de rétention de 60s (**fig**), durant lequel on mesurera principalement le temps passé dans le quadrant qui contenait la plate-forme au cours des essais précédents (le quadrant Ouest).

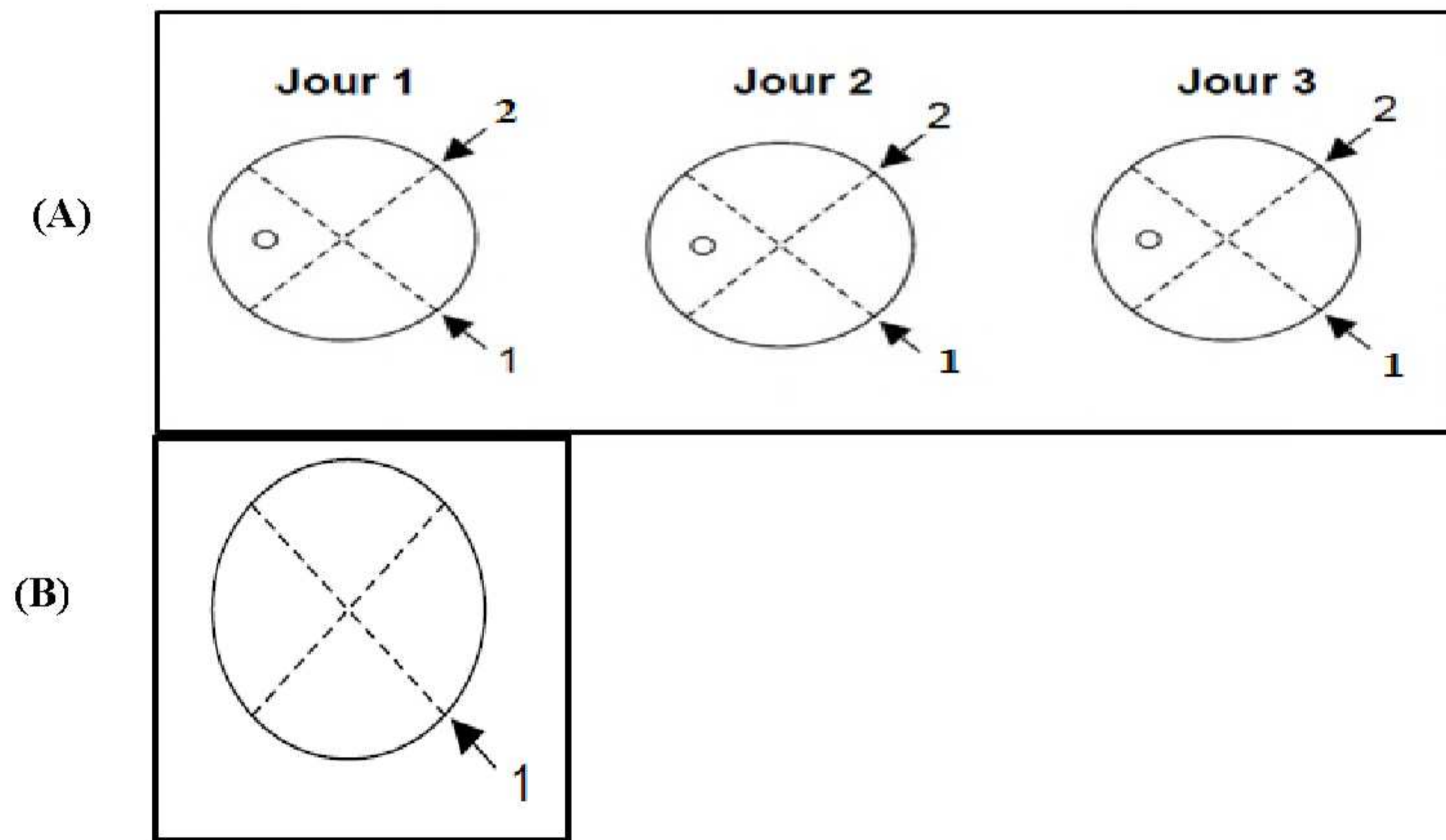


Figure 10 : Déroulement des tâches dans la piscine de Morris.

- (A) Protocole de mémoire de référence : apprentissage (3jours, plate-forme invisible).
 (B) Test de rétention du protocole de mémoire de référence (1jour, plate-forme absente).
 (A : 1) Le premier point de lâche de la souris.
 (A : 2) Le deuxième point de lâche de la souris.
 (B : 1) Le point de lâche de la souris lors du test de rétention.

1.9.2. Test de neurotoxicité du mélange de pesticides

1.9.2.1. Choix des pesticides

Pour la présente étude nous avons choisi de tester l'effet neurotoxique d'un mélange de deux pesticides les plus utilisés sur les fruits et légumes à Bejaia. Nous avons établi une liste afin de déterminer les pesticides les plus fréquemment utilisés. Cette démarche nous a conduit à définir les pesticides à tester. IL s'agissait d'un herbicide (glyphosate) et un insecticide organophosphoré (chlorpyriphos).

1.9.2.2. Préparation des solutions des pesticides.

Les deux pesticides glyphosate et chlorpyriphos ont été obtenues de l'Institut National d'Agronomie Algérien. La structure chimique et le poids moléculaire de chaqu'un des deux pesticides sont donnés dans le Tableau 3. Les pesticides à tester (Glyp, CPF) sont dilués dans de l'eau distillé selon leur facteur de solubilité et administré à des doses répétées des substances actives a fin :

- De mettre en évidence les altérations fonctionnelles et/ou pathologiques consécutives à l'administration répétée de la même dose.
- D'établir les conditions d'apparition de ces altérations en fonction de la posologie.

Tableau 3. Propriétés physicochimiques des deux pesticides utilisés (ECH, 2006 ; 2009)

	Glyphosate	Chlorpyriphos
Nome des pesticides	Herbicide organophosphorés	Insecticide organophosphorés
La formule	C ₃ H ₈ NO ₅ P	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS
Etat physique	Liquide	Liquide
Poids moléculaire	169,1	350,59
Famille chimique	N-phosphonomethyl-glycine	O,O-diethyl O-3,5,6-trichloro-2-pyridyl phosphorothioate
CAS n°	1071-83-6	2921-88-2
Solubilité dans l'eau	10 à 12 g/L à 20 °C	0,002 g/l à 20 °C.

1.9.2.3. Le choix de la dose

D'après les valeurs expérimentales des DL50. Pour notre étude nous choisissons de tester la toxicité subaiguë des doses suivantes :

- La dose à injectées pour le chlorpyrifos aux souris par voie intra péritonéale de : (DL50 192/6 mg/kg du poids corporelle de souris) (Sultatos *et al.*, 1982).
- La dose à injectées pour le glyphosate aux souris par voie intra péritonéale de : (DL50 130/6 mg/kg du poids corporelle de souris) (Chan *et al.*, 1992).

1.9.2.4. Traitement des souris

Les 12 souris sont réparties en deux lots :

- **Le lot témoin** : Constitué de 6 souris mâles recevant par injection I.P de l'eau physiologique (Na Cl) (400µl par 25-39 g de poids corporel).
- **Le lot expérimental** : Constitué de 6 souris mâles. Les rongeurs sont traités par voie I.P avec un mélange du GLYp et CPF dissout dans de l'eau distillée. Une dose de 1/6 de DL 50 et qui correspond à 21,16 mg/kg pour le Gly, et 32 mg/kg pour le CPF, données au rythme d'un jour sur trois pendant 6 semaines (
- Figure 11).



Figure 11 : Photographie d'une injection intra péritonéale d'une souris d'un mélange de deux pesticides (Glyp et CPF).

1.10. Coloration étapes histologique

Les cerveaux des animaux ont été enlevés immédiatement introduite pendant 72 heures dans le formol à 10% permettant l'immobilisation et la fixation des structures et les constituants cellulaires. Les différents prélèvements effectués sont mis dans des cassettes. Le passage de chaque prélèvement dans une série de solvants organiques permet la déshydratation et la dissolution des graisses figurées

intra-tissulaires. La déshydratation est une étape cruciale pour une bonne coupe histologique par immersion dans des bains d'alcool de degrés croissants avant d'être coulés dans un moule contenant de la paraffine fondue par chauffage, qui infiltre le tissu. L'inclusion consiste à confectionner un bloc de paraffine pour chaque prélèvement en orientant convenablement le fragment dans le sens de la coupe.

La coupe du bloc de paraffine se fait au microtome et permet de réaliser une coupe très fine de 3 microns d'épaisseur pour chaque prélèvement dans un plan transversal à partir des tissus bloqués. Cette épaisseur permet aux rayons lumineux du microscope de traverser le prélèvement et d'éviter les superpositions cellulaires. La coupe est déposée et collée sur une lame en verre. Les coupes sont déparaffinées et réhydratées, cette étape est assurée par une succession de bains, d'abord dans un solvant permettant l'élimination de la paraffine (xylène) puis dans des alcools de titre décroissant colorés. La coloration permet de mettre en évidence spécifiquement les différentes structures tissulaires et cellulaires. La coloration utilisée est l'hématoxyline-éosine ; qui colore le noyau en bleu et le cytoplasme en rose. Les lames sont montées et observées au microscope optique (Laboratoire anatomie histopathologie _ Médecine) (René, 1984).

1.11. Etude statistique

Les données sont présentées comme moyenne \pm SEM. L'analyse statistique a été réalisée en utilisant le logiciel statistique Graph Pad Prism de L'analyse de la variance ANOVA one way et le teste t, la différence entre les groupes témoins et groupes traités, a été obtenue par les post-tests de comparaison multiples Dunnett et Whitney. Les valeurs sont considérées statistiquement significative à * $p < 0.05$.

Chapitre III : Discussions et résultats

Partie 1 : Résultats et discussions des ondes téléphoniques

1.12. Comportement général des souris

Les animaux exposés aux ondes ne semblent pas montrer de modifications du comportement comparativement aux animaux témoins et ceci quelques jours après le début de l'exposition aux RF. Pour tous les animaux, l'observation d'une phase d'agitation importante durant les 1^{ères} heures suivant leur mise en place a été notée. Dans un premier temps, les animaux sont stressés par leur nouvel environnement et présentent un comportement explorateur marqué. Passée cette période d'adaptation, les souris se calment et retrouvent une activité locomotrice plus faible. Les souris se mettent à manger ou à boire, ce qui signe le retour à un comportement normal. Les animaux ne présentent pas de signes de douleurs telles qu'une prostration (un état de faiblesse et de fatigue extrêmes), ou un hérississement du poil.

▪ Poids corporel

Le suivi du poids est généralement un bon indicateur de l'état de santé des animaux. Par son suivi, nous avons cherché à déterminer si l'exposition aux RF avait une influence sur la diminution ou la prise du poids chez les souris.

Les animaux ont été pesés avant le début d'exposition aux RF (J-1), les jours de leur mise en place (J-2), durant les jours d'exposition (J-3 à 8), et à la fin de l'expérimentation (J-9). Les résultats sont représentés dans la figure 12.

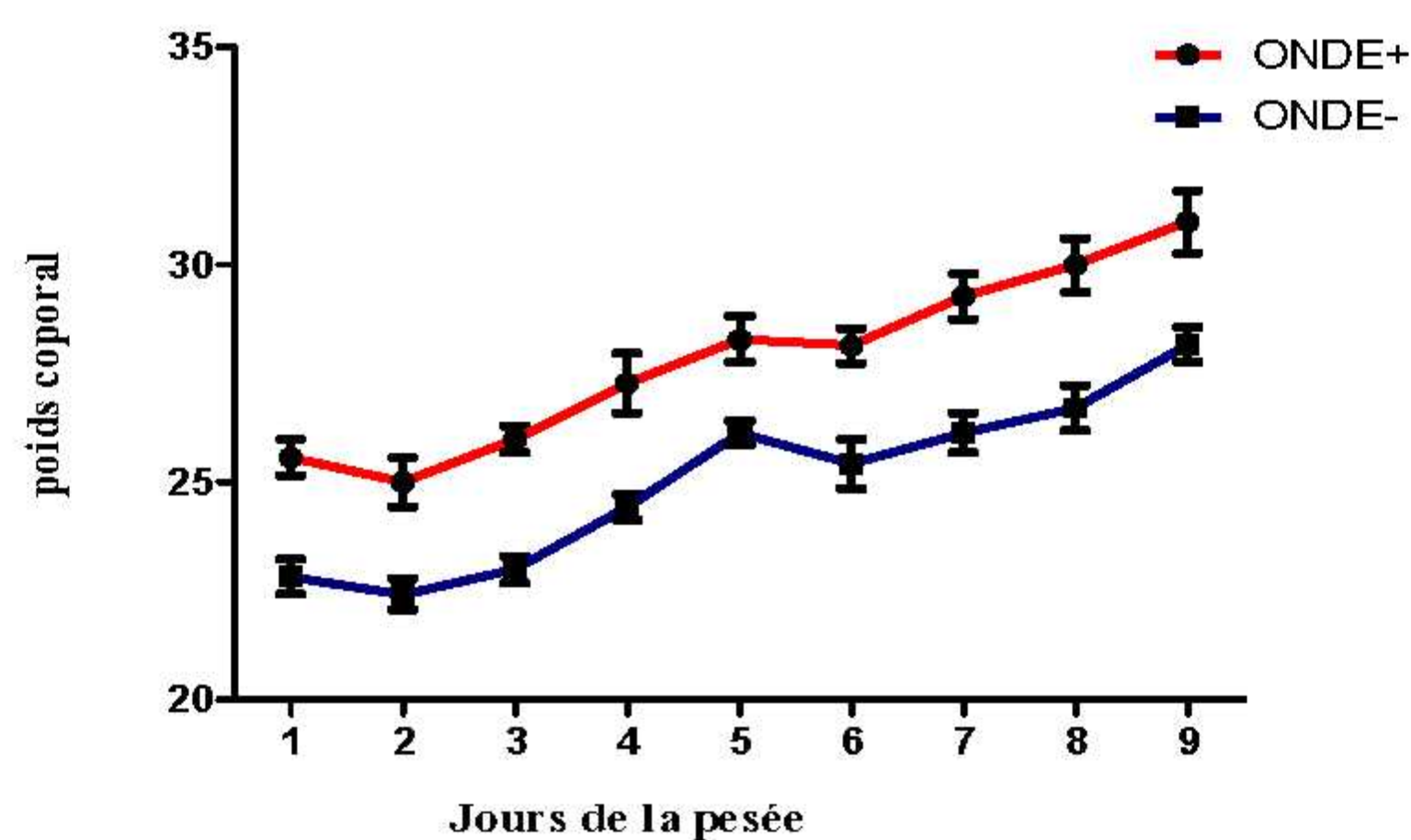


Figure 12 : Comparatifs représentant le poids moyen des animaux pour chacune des pesées.

Le suivi de la variation de la masse corporelle des animaux au cours de l'expérience d'exposition aux ondes RF a démontré qu'il n'y a pas de différence significative entre le groupe contre (ONDE-) et le groupe test (ONDE+). Cette figure met en évidence une augmentation générale du poids des animaux sur la totalité de l'expérimentation. Cette observation est en accord avec l'âge des animaux qui se situent en pleine période de croissance.

Ces résultats permettent en outre de confirmer la non répercussion des expositions sur l'état général de l'animal et donc l'absence d'une toxicité générale induite par les ondes RF au cours de l'expérimentation.

1.13. Résultats des tests de mémoire

1.13.1. Résultat du test de reconnaissance d'objet

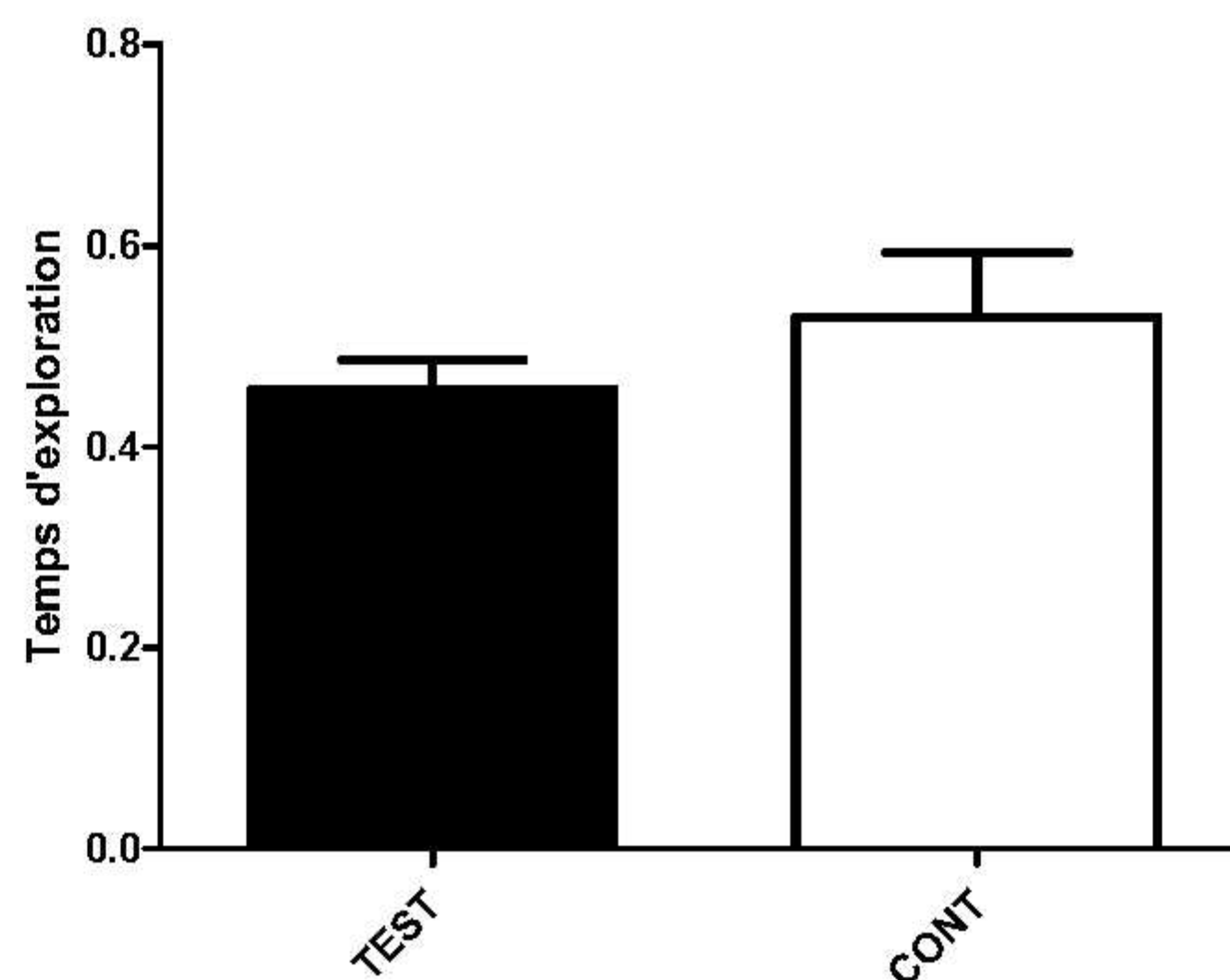


Figure 13 : Histogramme Indice de reconnaissance d'objet de souris exposée aux ondes (TEST) et souris non exposée (CONT).

Les résultats obtenus n'ont montré aucune différence statistiquement significative entre les souris exposées aux RF et le groupe de souris contrôle.

Dans ce test, la mémoire de reconnaissance est déduite par le plus grand nombre de temps passé à explorer le nouvel objet plutôt que l'objet familier. Les souris du groupe contrôle passent 50% de leur temps à explorer le nouvel objet, par rapport aux souris du groupe exposée qui passent 55% de leur temps à explorer l'objet familier. Le résultat obtenu est en contradiction avec les résultats rapportés par Adam et son équipe (**Adam et al., 2016**). L'ensemble de nos résultats obtenus dans la tâche de reconnaissance d'objet ne confirme pas donc les effets des ondes du téléphone mobile sur la mémoire d'apprentissage. L'ensemble des données recueillies dans la tâche de reconnaissance d'objet suggère que les résultats obtenus sont dus soit par défaut de la procédure du déroulement de cette

tache, ou les objets utilisés ne sont pas conformes avec les conditions de la tâche de reconnaissance d'objet et ou le nettoyage de l'enceinte et les deux objets avec de l'alcool n'a pas effacé l'odorat laissée par les souris congénères.

Un des intérêts majeurs de ce type de tâche réside dans le fait qu'elle ne nécessite ni restriction alimentaire, ni apprentissage d'une règle particulière. Les tâches de reconnaissance sont basées sur la tendance spontanée des rongeurs à explorer préférentiellement les aspects nouveaux de leur environnement, il a été démontré par plusieurs études que l'apprentissage ou la reconnaissance se traduisait par l'intérêt porté pour un nouvel objet.

1.14. Résultat du test de la piscine de Morris

Le test de la piscine de Morris permet d'évaluer la capacité de l'animal à utiliser les indices visuels et à faire appel à sa mémoire procédurale, de travail et de référence. Les résultats obtenus sont représentés dans la Figure 14.

La mémoire de référence consiste à localiser la plate-forme immergée invisible dont la position reste inchangée (ici dans le quadrant Ouest) au cours de 3 jours consécutifs. Chaque souris subit une séance quotidienne de 2 essais séparés par un délai de 10 mn durant lequel l'animal est replacé dans sa cage. L'essai se termine lorsque la souris a atteint la plate-forme, ou bien lorsque 60s se sont écoulées, si la souris ne trouve pas la plate-forme durant les 60 s de l'essai, elle est guidée par l'expérimentateur jusqu'à la plate-forme. Une fois l'animal sur la plate-forme, il y est laissé pendant 30s avant de la ramener jusqu'à sa cage. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 14.

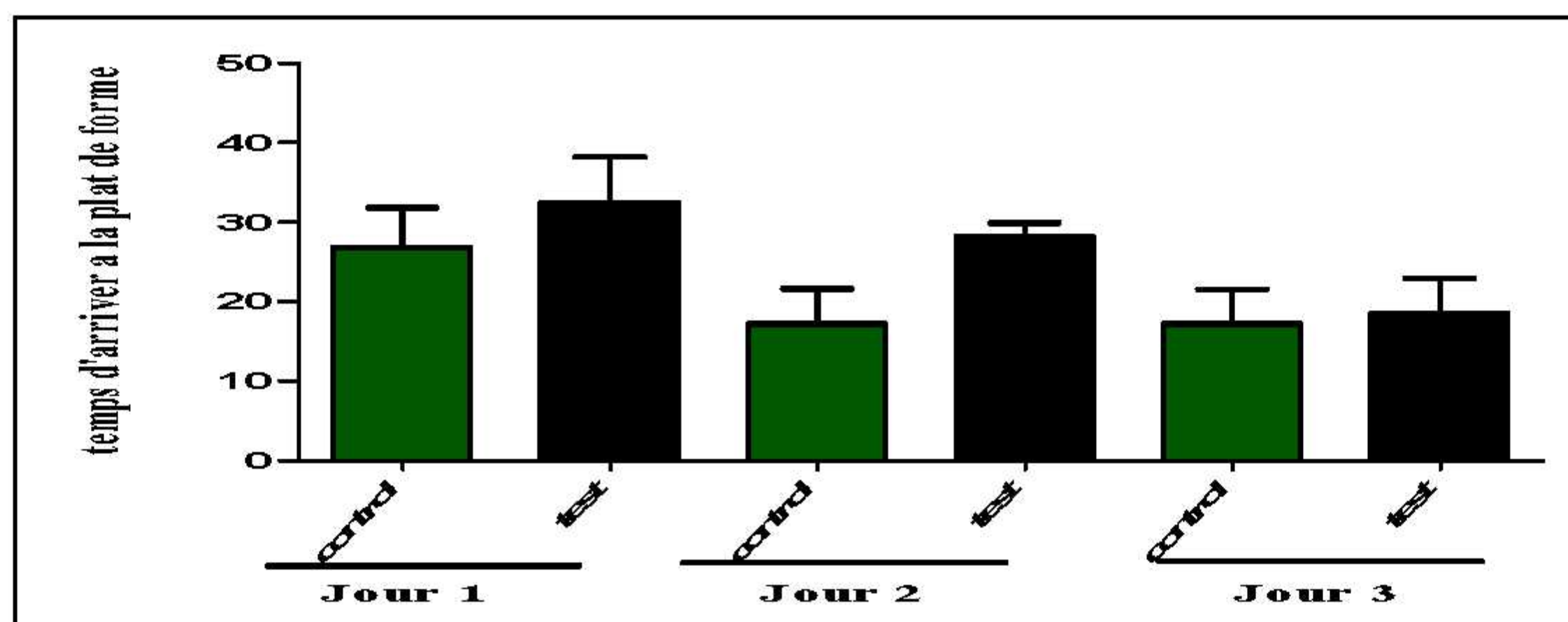


Figure 14 : Histogramme comparatifs des résultats obtenus lors du teste de mémoire des souris contrôle et souris test pendant les trois jours d'acquisitions.

La figure ci-dessus ne démontre pas l'existence d'une différence significative entre le contrôle et le groupe test. Les performances des souris lors de cette tâche d'apprentissage évoluent positivement, ou nous voyons une diminution du temps pour atteindre la plate forme émergée pour le 3^{ème} jour. La navigation spatiale (dans laquelle le rongeur doit retrouver une plate-forme cachée basée sur l'orientation par des signaux spatiaux extra de l'enceinte) dépend de l'hippocampe, mais la navigation non spatiale (par exemple, la navigation vers une plate-forme visible) ne dépend pas de ce dernier. Cette méthode nous permet d'évaluer l'apprentissage spatial et la mémoire et le niveau d'apprentissage atteint par l'animal est corrélé positivement avec le nombre de nouveaux neurones de l'hippocampe.

D'après les résultats, une diminution de cette capacité est observée, laissant donc présager des lésions au niveau de l'hippocampe induites par les ondes.

1.15. Résultats de la tâche de mémoire de référence

Vingt-quatre heures après le dernier essai du protocole de mémoire de référence, la plate-forme est retirée du bassin et les souris subissent un test de rétention de 60s, durant lequel on mesurera principalement le temps passé dans le quadrant qui contenait la plate-forme au cours des essais précédents (le quadrant Ouest). Dans la tâche de mémoire de référence, la plate-forme invisible est localisée au centre du quadrant cible. Les souris sont déposées dans le bassin à partir d'un point de lâcher. Les performances sont analysées en termes de moyenne du seul essai pour un même jour. L'analyse des performances du dernier jour montre que les deux groupes de souris ont atteint un niveau de performance similaire bien que celui du groupe contrôle reste meilleur que celui du groupe test (Figure 15)

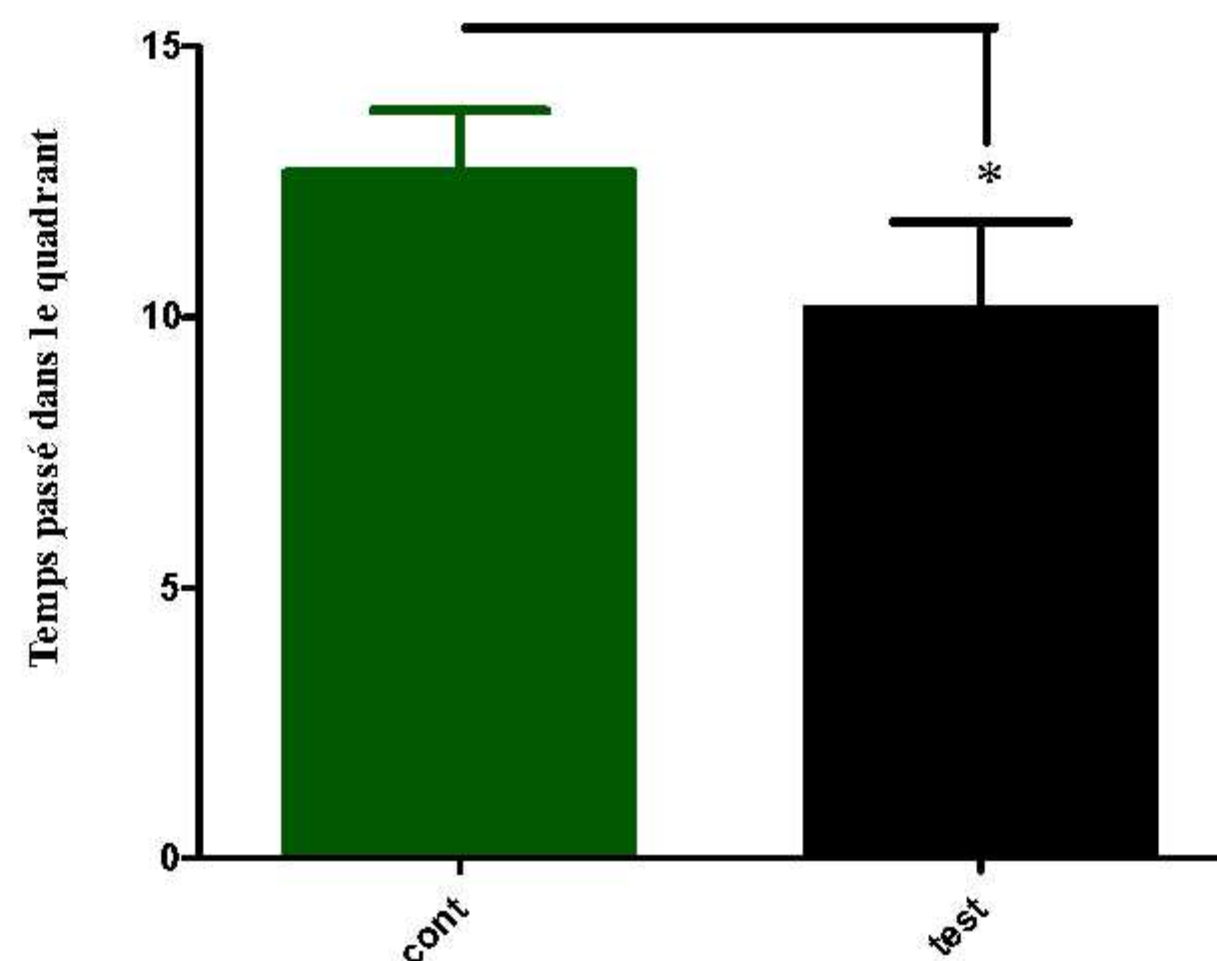


Figure 15 : Histogramme comparatifs des résultats du contrôle négatifs et positifs pendant le test de rétention de la piscine de Morris.

Cette étude démontre bien l'effet négatif des ondes sur le comportement et la mémoire des souris. Afin de confirmer ce résultat, des observations macroscopiques du cerveau et microscopique de l'hippocampe ont été réalisées.

1.16. Lésions macroscopiques

1.16.1. Animal moribond

Un animal du groupe contrôle a été euthanasié pour raison éthique le vingtièmes jour de l'étude la souris paraissaient amaigris. L'examen macroscopique a révélé la présence de nombreuses taches dans les poumon et une hypotrophie du cœur, raffermissement diffus des hémisphères cérébraux, associées à une pâleur tissulaire généralisée.

1.16.2. Sacrifice final

Des modifications macroscopiques considérées comme liées à l'exposition aux ondes ont été observées chez animaux du groupe test par rapport à ceux du groupe témoin et un animaux présentait un raffermissement diffus des hémisphères cérébraux (corrélé à une contraction marquée des ventricules latéraux lors de l'examen microscopique). Comme il a été observé une tache blanche (**Figure 16:B**) qui est caractéristique des lésions cérébrales. Il a été aussi intéressant d'obtenir un cerveau possédant une masse, aucune description dans la bibliographie ne nous a permis de l'identifier.

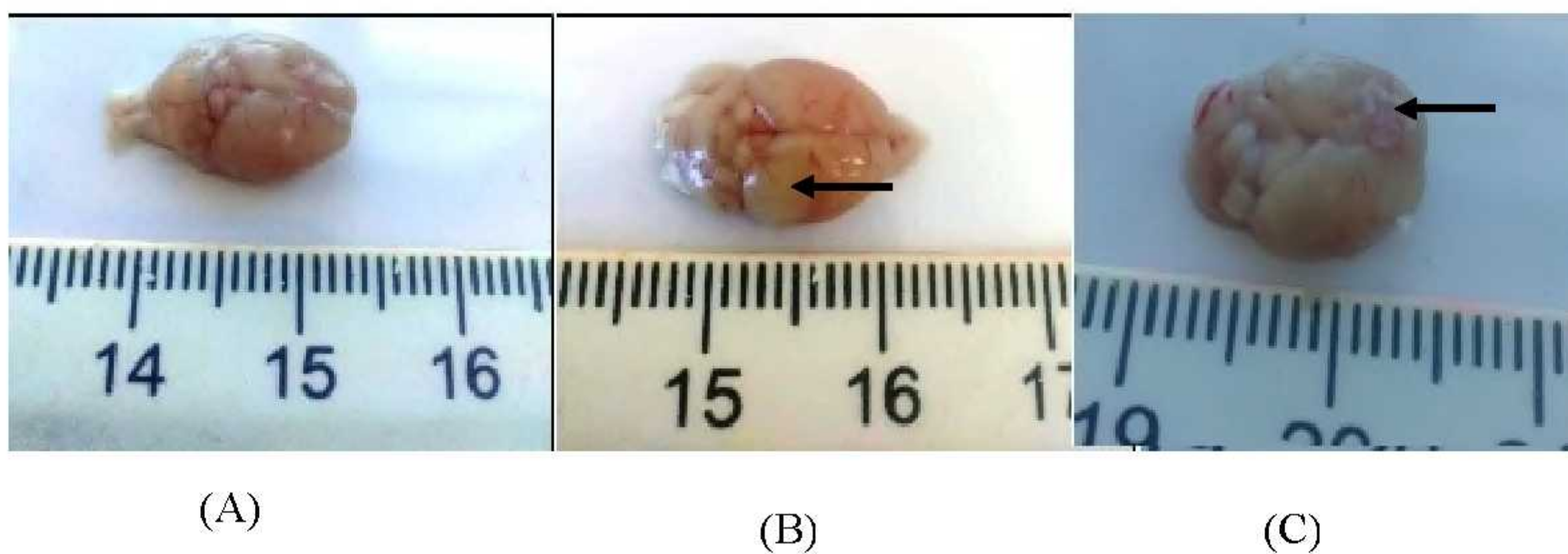


Figure 16 : Photographie original des cerveaux de souris après sacrifice.

(A) : Cerveau de souris control.

(B) : Cerveau de souris exposé aux ondes RF (présence d'une tache blanchâtre).

(C) : Cerveau de souris exposé aux ondes RF (présence d'une masse).

1.16.3. Lésions microscopiques

Tous les animaux ont fait l'objet de prélèvements tissulaires pour analyse histopathologique. Les tissus provenant de l'animal ayant présenté un raffermissement diffus des hémisphères cérébraux lors

de l'examen macroscopique, ont été soumis à l'examen microscopique en supplément de ceux provenant des autres animaux du groupe test et contrôle.

Des lésions microscopiques considérées comme liées à l'exposition aux ondes ont été observées dans presque toutes les zones de l'hippocampe quelque soit la région CA ou DG.

Dans cette étude, l'évaluation de la neurotoxicité des ondes émises par les ondes téléphoniques a été réalisée par la méthode d'exposition standard avec des modifications. Cette méthode, basée essentiellement sur l'évaluation *in vivo* du risque d'apparition des lésions au niveau de l'hippocampe dues à la pénétration des ondes magnétiques dans le cerveau. Cette méthode présente l'avantage de s'appliquer à l'humain. En effet les rongeurs présentent des similarités métaboliques avec l'être humain, ce qui nous a permis d'extrapoler les résultats obtenus sur l'homme. Les principales lésions sont représentées dans la figure 17.

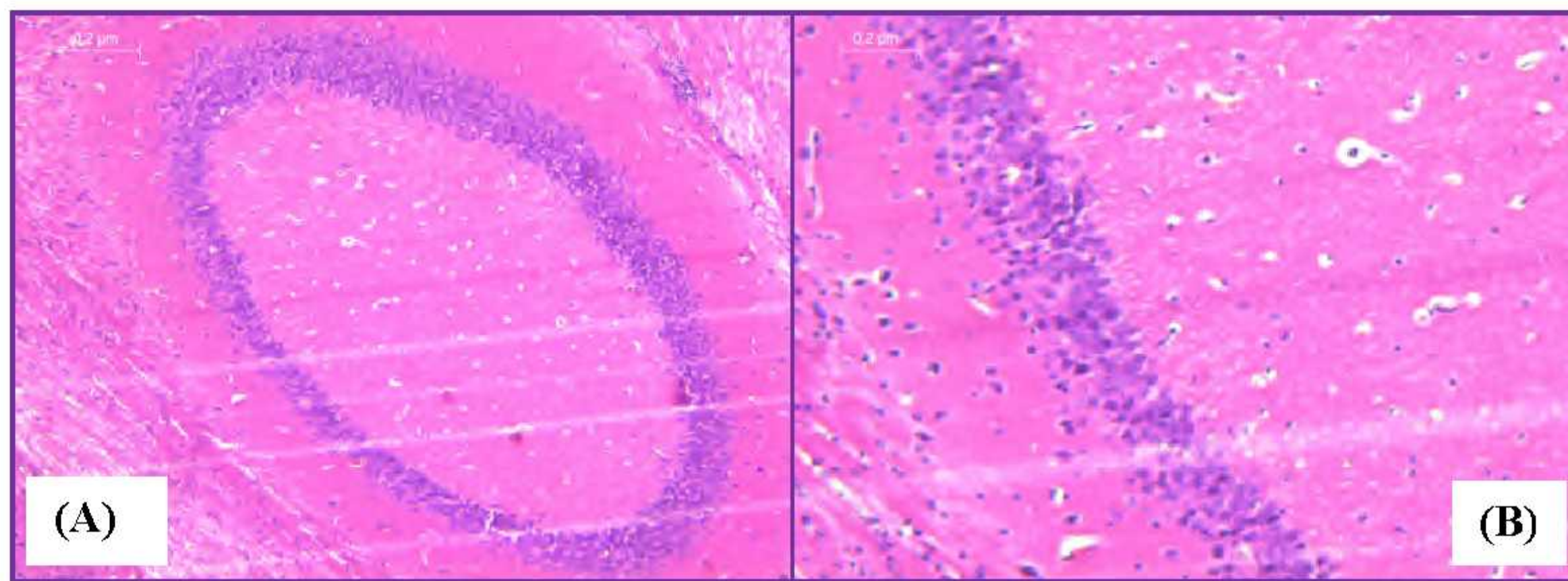


Figure 17 : Lésions microscopiques de l'hippocampe induites par l'exposition à l'onde de la souris qui représente un raffermisssement diffus des hémisphères cérébraux.

(A): Hippocampe avec une structure en cercle (H&E, A: x 4).

(B): Corne d'Ammon (H&E, B: x 20).

A ce jour, la plupart des études réalisées concernant les fréquences de la téléphonie mobile, n'ont pas rapporté de résultats qui expliqueraient la déformation de la structure d'hippocampe observée chez la souris qui présente un raffermisssement des hémisphères cérébraux.

À cet égard, la naissance et la maturation des neurones dans le gyrus denté de l'hippocampe adulte conduisant à un remodelage fonctionnel et structurel permanent de cette région est l'un des phénomènes plastiques qui a capturé la plus grande attention de la communauté des Neurosciences (Nicolas et al., 1999), en effet la production et la plasticité des nouveaux neurones de la région DG sont des éléments qui confère la fonction à l'hippocampe (Bas et al., 2009), ce qui expliquerait la structure circulaire observée dans la DG. Comme la neurogenèse de l'hippocampe chez l'adulte a été signalée, elle a été liée à des fonctions cognitives et émotionnelles dépendantes de l'hippocampe. Cependant, la preuve scientifique disponible est loin d'offrir une vision homogène du rôle fonctionnel

des neurones de l'hippocampe nés à l'adulte, montrant des résultats différents et même contradictoires (Castilla-Ortega *et al.*, 2011). Cette production de nouveaux neurones fonctionnels a lieu dans le gyrus dentelé durant toute la vie de l'individu.

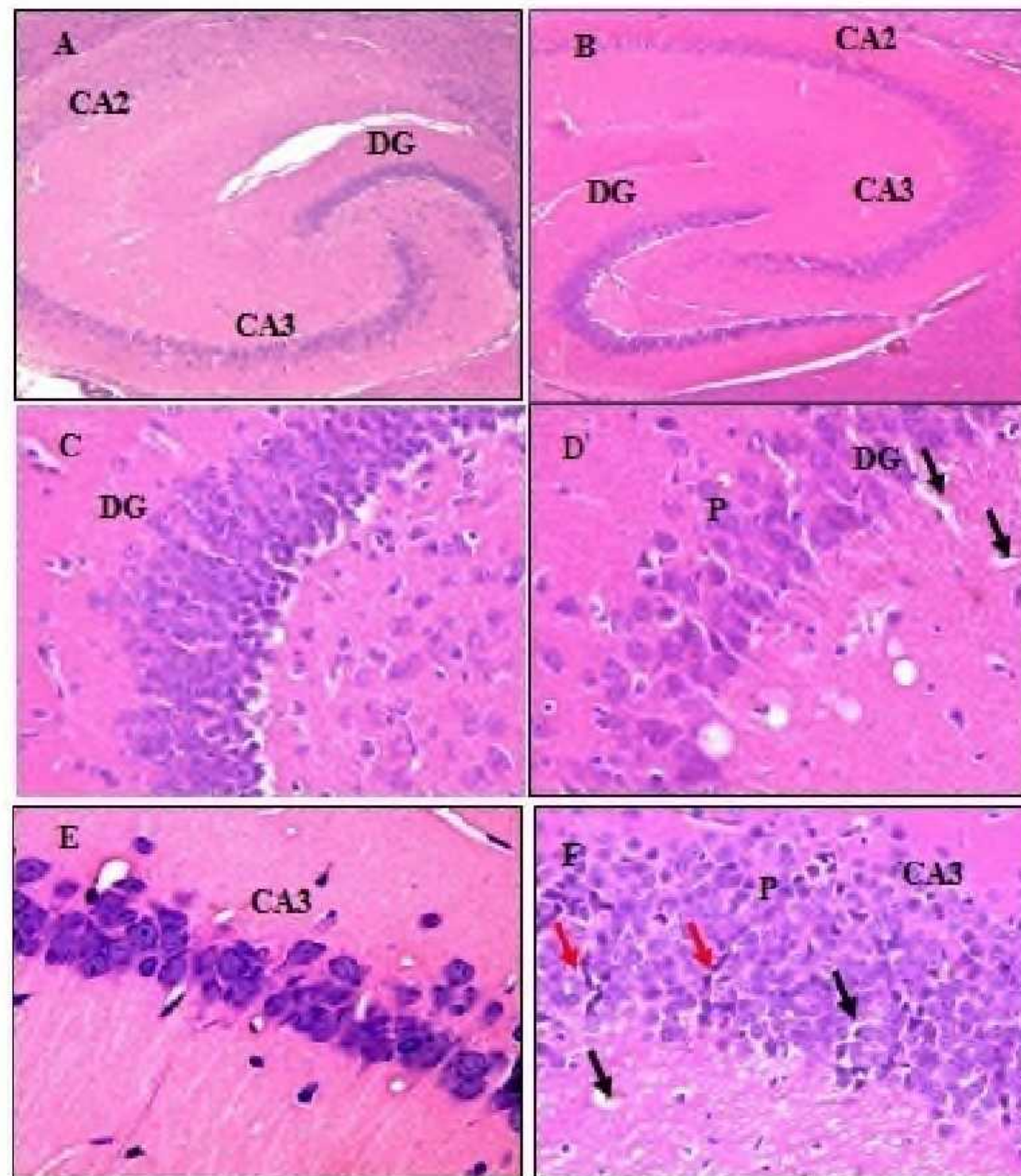


Figure 18 : Lésions retrouvées au niveau de l'hippocampe.

(A) : Coupe normale hippocampe de souris non exposée (A : x 4).

(B) : Coupe hippocampe de souris exposée nécrose légère des cellules pyramidales dans la zone CA3 amène à une désorganisation de cette zone visualisable à faible grossissement (B : x 4).

(C) : Gyrus dentelé de souris contrôle (C : x 20).

(D) : Diminution des cellules pyramidale dans la zone DG des souris exposées (D : x 20).

(E) : Corne d'Ammon groupe contrôle (E : x 20).

(F) : Corne d'Ammon groupe exposé : (F : x 20).

- (flèche noire), neurone noir.
- (flèche rouge), nécrose marquée des cellules pyramidales dans toutes les zones de l'hippocampe a conduit à l'atrophie bilatérale modérée de l'hippocampe et à l'expansion secondaire marquée des ventricules latéraux.

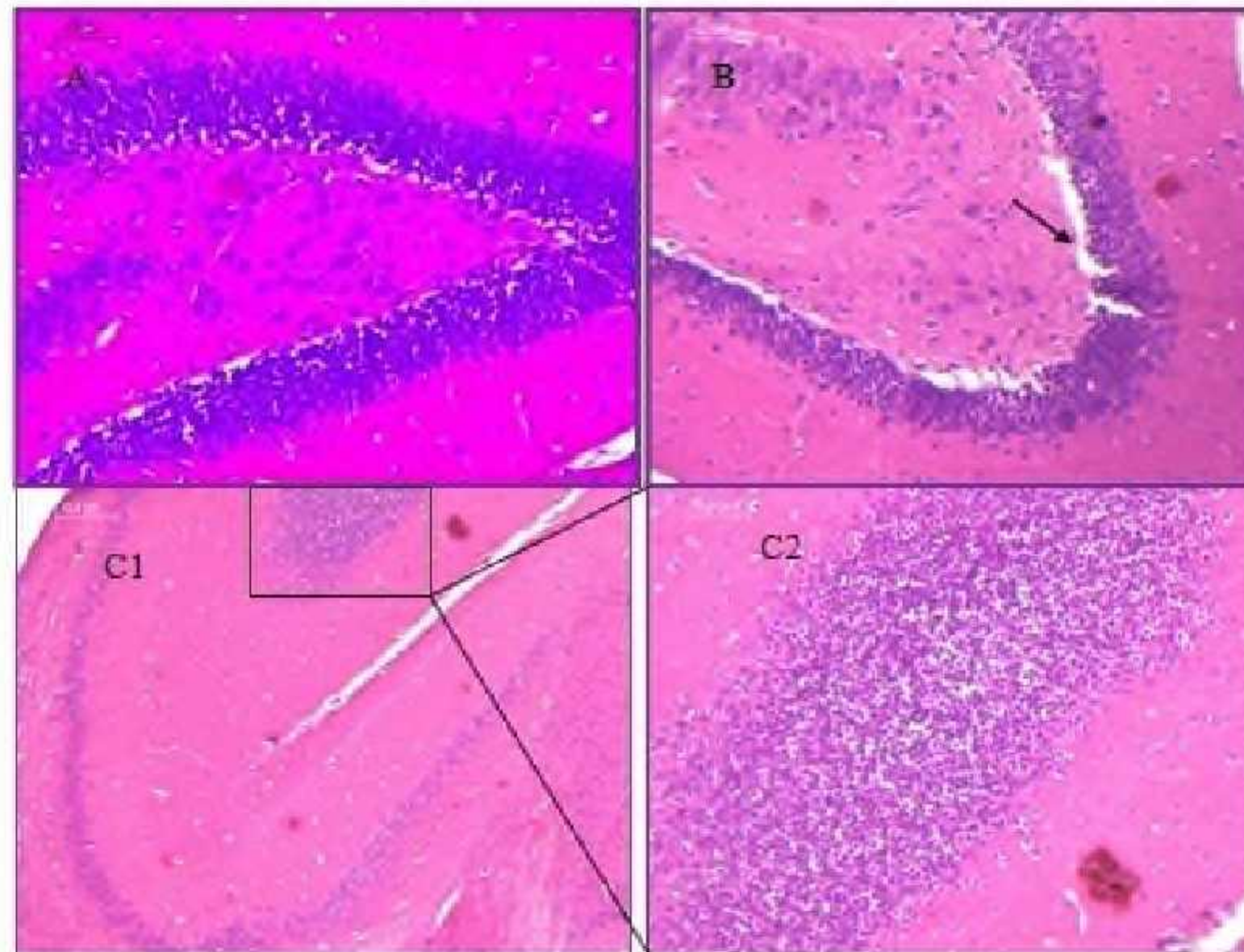


Figure 19 : Lésion retrouvées au niveau de l'hippocampe.

(A) : Gyrus dentelé de souris contrôle (A : x 10).

(B) : Gyrus dentelé de souris exposé (B : x 10).

(Flèche noire) vacuolisation de partie intra hippocampique

(C1) : Couche radiatum de hippocampe de souris exposés, visualisations a faible grossissement d'un amas cellulaire (C1 : x 4).

(C2) : Zone avec l'amas cellulaire (C2 : x 10).

Salford et ces collaborations en 2003, ont mis en évidence des neurones endommagés dans le cortex et dans l'hippocampe et les ganglions basaux, chez les rats exposés aux ondes GSM 900 Mhz. Bien que la conception de la présente étude soit différente de l'étude de (Bas et al., 2009), nos résultats histopathologique sont similaires aux leurs (la région CA3 a des neurones colorés sombrement entre les cellules pyramidales normales). Dans cette étude, les dommages neuronaux dans l'hippocampe de souris ont été démontrés (Figure 19). Les neurones noirs dispersés étaient souvent rétrécis et sombrement colorés. Il est intéressant de noter qu'aucune hémorragie ni aucune réaction gliale discernable n'ont été trouvées adjacentes aux neurones modifiés. Bien qu'ils aient vu des changements dans les neurones de tous les endroits, une déficience prononcée était située dans les l'hippocampe.

Il a été rapporté que le fonctionnement neuronal perturbé par l'exposition à des champs magnétiques extrêmement basse fréquence entraîne des événements de signalisation Ca^{2+} altérés, contribuant ainsi à l'activité aberrante du récepteur N-méthyl-D-aspartate dans l'hippocampe du rat (Manikonda et al., 2007). Une autre étude a été menée afin de mesurer les effets de l'exposition à une radiofréquence de 900 MHz sur le contenu GABA dans l'hippocampe (Mausset, et al., 2001). Ils ont

observé une réduction sélective de la zone de traitement colorée dans la couche cellulaire du gyrus denté après exposition à la radiofréquence par impulsion et une diminution de la densité optique.

Les données actuelles tendent à montrer une interaction des ondes RF de la téléphonie mobile avec l'EEG en sommeil, éveil ou tâche cognitive. Cependant, ces modifications sont assez faibles, toujours temporaires, et aucune conséquence sur la santé ne leur a été clairement attribuée.

Partie 2 : Résultats et discussions des traitements aux pesticides

1.17. Comportement général des souris

Dans le deuxième axe de notre étude, nous nous sommes intéressés à la neurotoxicité de pesticides utilisés dans l'agriculture locale. Pour cela nous avons utilisé un mélange composé d'un pesticide, le chlorpyrifos (CPF) et un herbicide, le glyphosate (Glyp). Nous tenterons d'explorer les modifications histopathologique retrouvées dans le cerveau.

Préalablement, des observations générales sur le comportement des souris ont été réalisées. Les souris traitées ont présenté quelques changements de comportement observés surtout durant les heures qui suivent l'injection et disparaissent par la suite. Les changements les plus notables sont résumés dans le tableau 4 ces observations exprime une significativité et ce conformément aux résultats de (Bradbury et al., 1987). Il a été observé chez les animaux traités tous les jours et pendant 30 jours avec du CPF et GLYp à ces modification suivantes :

Tableau 4 : Les modifications observée chez les souris traités avec du CPF et GLYp.

	Control	Tests
Nombre de souris	6 male	6 male
Dose	400µl	(21,16 mg/kg du GLYp et 32 mg/kg du CPF)
Poids	$30 \pm 0,83$	33 ± 0.79
Inflammation	Non	2 ^{ème} injection (une souris)
Agitation	Non	8 ^{ème} injection (2 souris)
Agressivité	Non	11 ^{ème} injection (deux souris)
Œdème au niveau du pied	Non	2 ^{ème} injection (trois souris)
des poils hérissés	Oui	5 ^{ème} injection (toute les souris)
Asthénie	Non	8 ^{ème} injection
Appétit	Normal	Normal
Crise épileptique	Non	Non
Activité des animaux	Normal	Réduit après chaque injection

1.18. Poids corporel:

Les mesures du poids corporel ont été effectuées au cours de 15 séances d'observation menées tout au long d'une série d'injections IP du CPF et Glyp (Groupe test) ou de Na Cl (Groupe Témoin) pendant 30 jours. Les souris intoxiquées aux CPF et Glyp évoluent presque de la même façon que les témoins avec augmentation séquentielle de poids. Cependant la différence dans le gain de poids au cours de la période de traitement était négligeable entre les deux groupes qui reste non significatif selon l'étude statistique : ($p=0.05$ vs male).

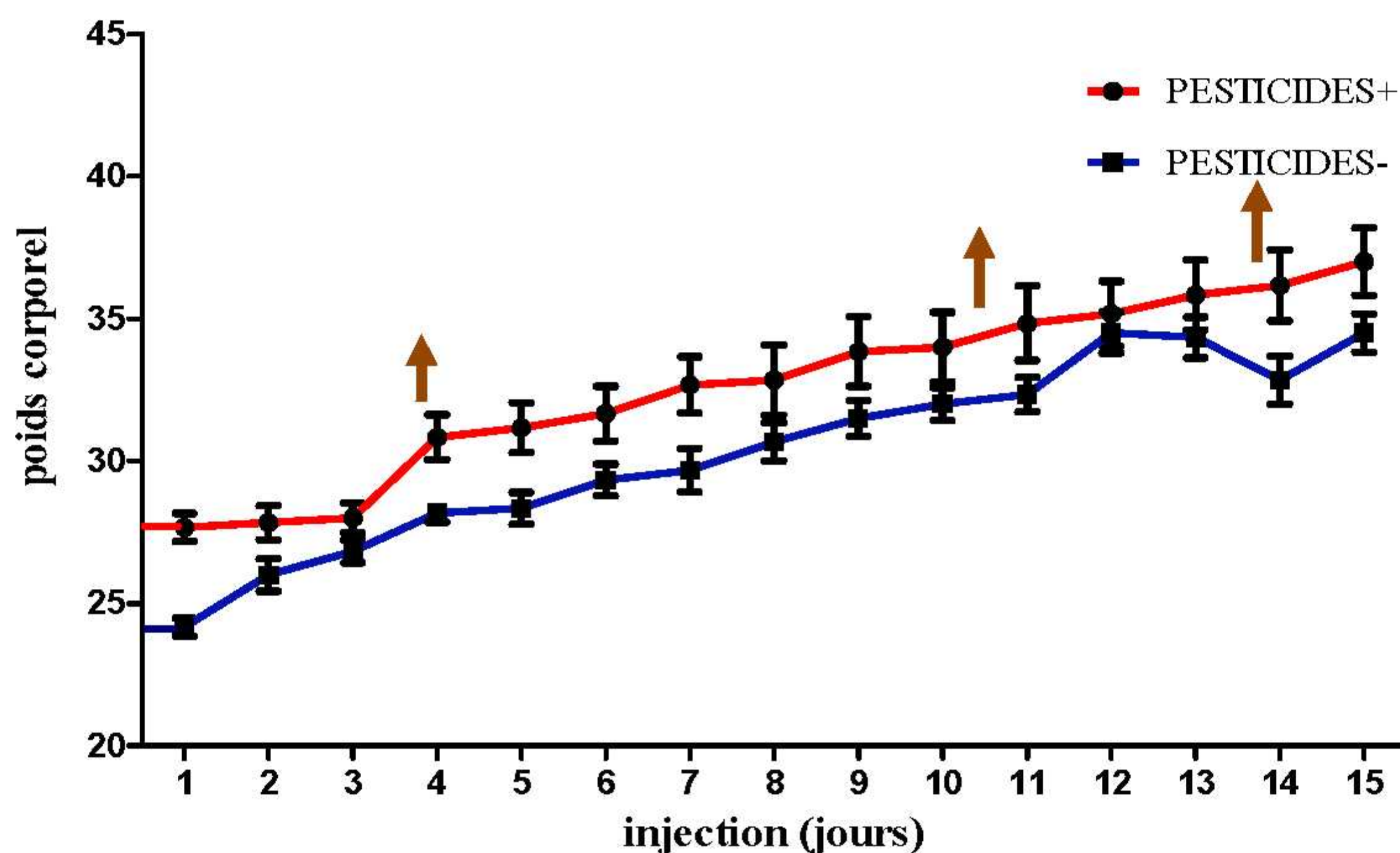


Figure 20 : courbe de l'évolution de poids de souris en fonction des jours d'injections. Contrôle : témoin traité avec l'eau physiologique (pesticides -), groupe traité (pesticides +) avec mélange de deux pesticides GLY et CRP les résultats sont présentés en moyenne \pm SEM pour $n=6$. Avec $p^* < 0.05$

1.19. Etude macroscopique

Après la dissection des souris et la récupération des cerveaux, des observations macroscopiques ont été réalisées. Certaines lésions ont été observées :

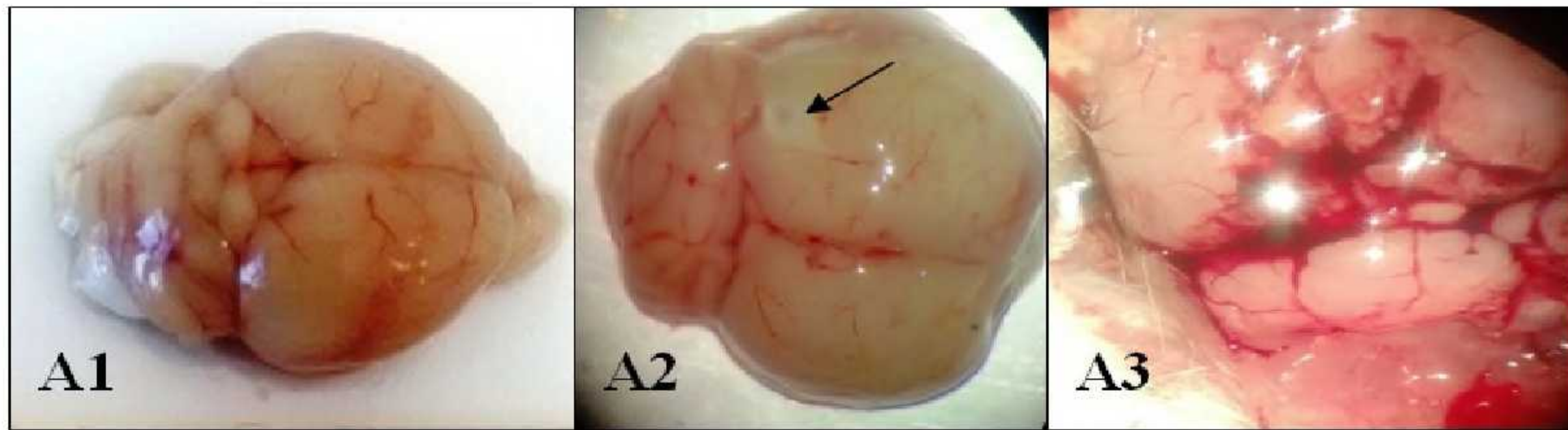


Figure 21 : Cerveau témoin (A1), cerveau traitées par les pesticides (A2) une tache blanche qui signifie que il existe des lésions cérébrales avec une structure anormale par report au témoin, cerveau de souris disséqué (A3) une hémorragie interne a été observée sous le microscope de la dissection.

Il a été observé des taches blanches au niveau de cerveau (A2) qui seraient indicatrices de lésions cérébrales par rapport au témoin (A1), un changement de couleur chez les souris traités par rapport aux témoins, un liquide brillant et une hémorragie (A3), ont aussi été observés. Ces observations concordent avec celles de (Erhummwunse *et al.*, 2014).

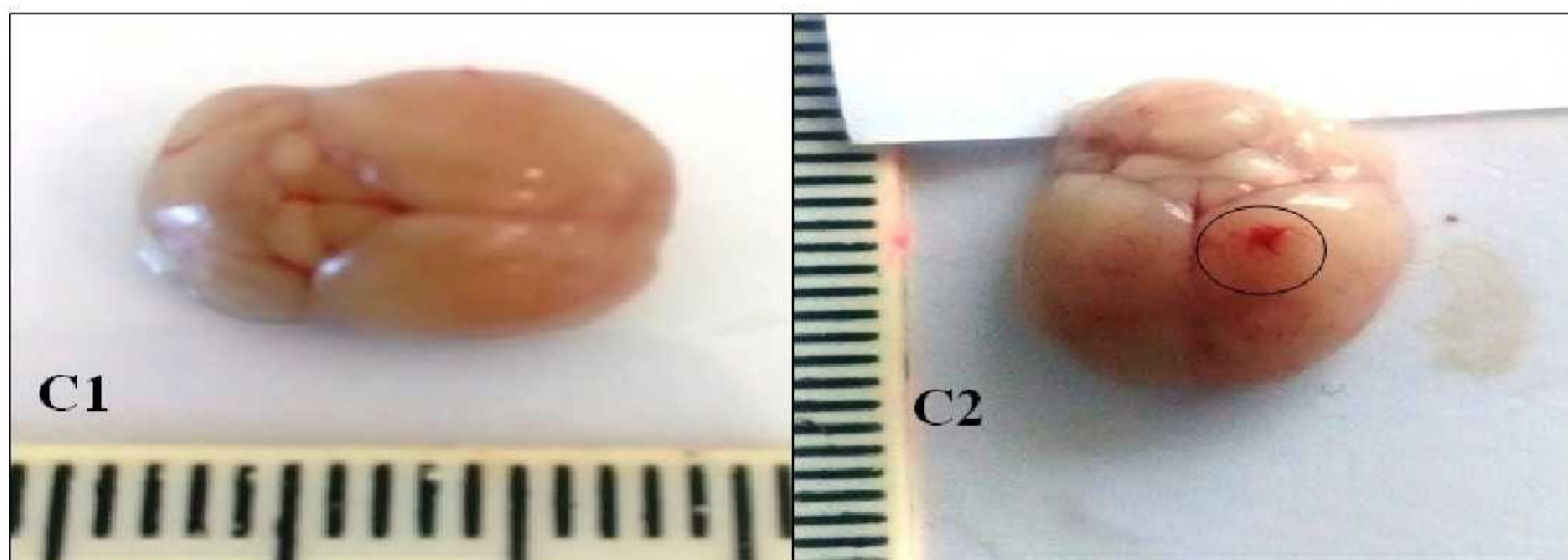


Figure 22 : Photographie original de cerveau présente une tache rouge C2 qui un œdème au niveau de cerveau traite par rapport au témoin C1 aucune tache a été représenté.

1.20. Etude microscopique :

L'examen histologique nous a permis de révéler dans plusieurs coupes et dans plusieurs secteurs du cerveau une structure de l'hippocampe anormale avec un amas des cellules DG remarque chez les souris normale une hypotrophie au niveau DG (flèche noir) (figure 23).

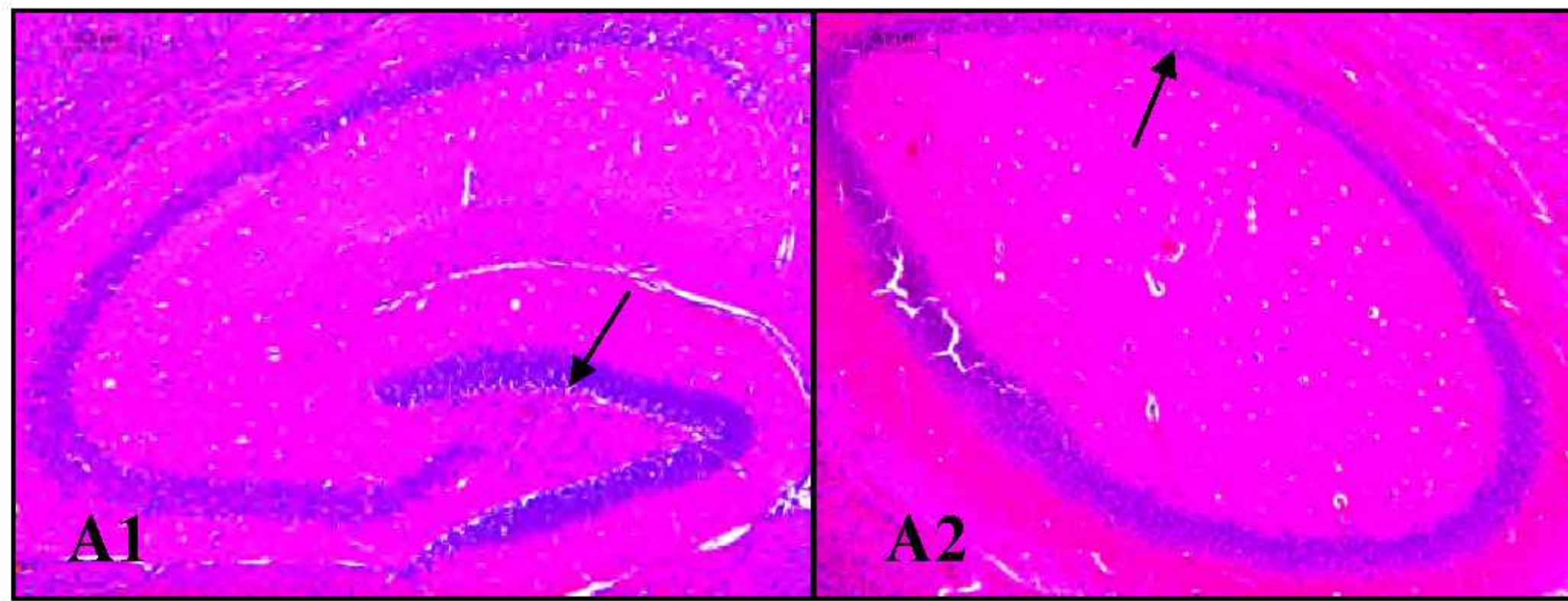


Figure 23 : A1 présente une structure normale de l'hippocampe, A2 présente une structure en cercle de l'hippocampe.

La structure du cerveau normale se compose des cellules neuronales claires avec des noyaux distincts, il n'y avait pas de décoloration, aucune lésion significative et aucun changement morphologique dans le cerveau. Lors de l'exposition aux pesticides GLYp et CPR, la nécrose des neurones, la formation de vacuoles mineures avec dégénérescence de cellules neuronales et de sinusoides distendus a été observée dans le cerveau des souris. Une hémorragie significative a également été observée à certains endroits. Après une exposition de 30 jours à la GLYp et CPR, des changements importants ont été observés dans la structure du cerveau de la souris traitée par rapport au cerveau de la souris témoin. D'autres dommages structurels, la nécrose dans les neurones, l'œdème intracellulaire et les noyaux pycnotiques ont été observés, il y a eu une augmentation de la nécrose des neurones et de la vacuolisation cytoplasmique. Des lésions graves ont également été notées dans le cerveau des souris (**figure 23**). Après la période d'expérience de 30 jours, un tissu neuronal réorganisé avec des noyaux indistincts a été observé dans le cerveau de la souris. Les résultats obtenus dans ce travail sont en accord avec ceux trouvés par (**Lakshmaiah, 2016**).

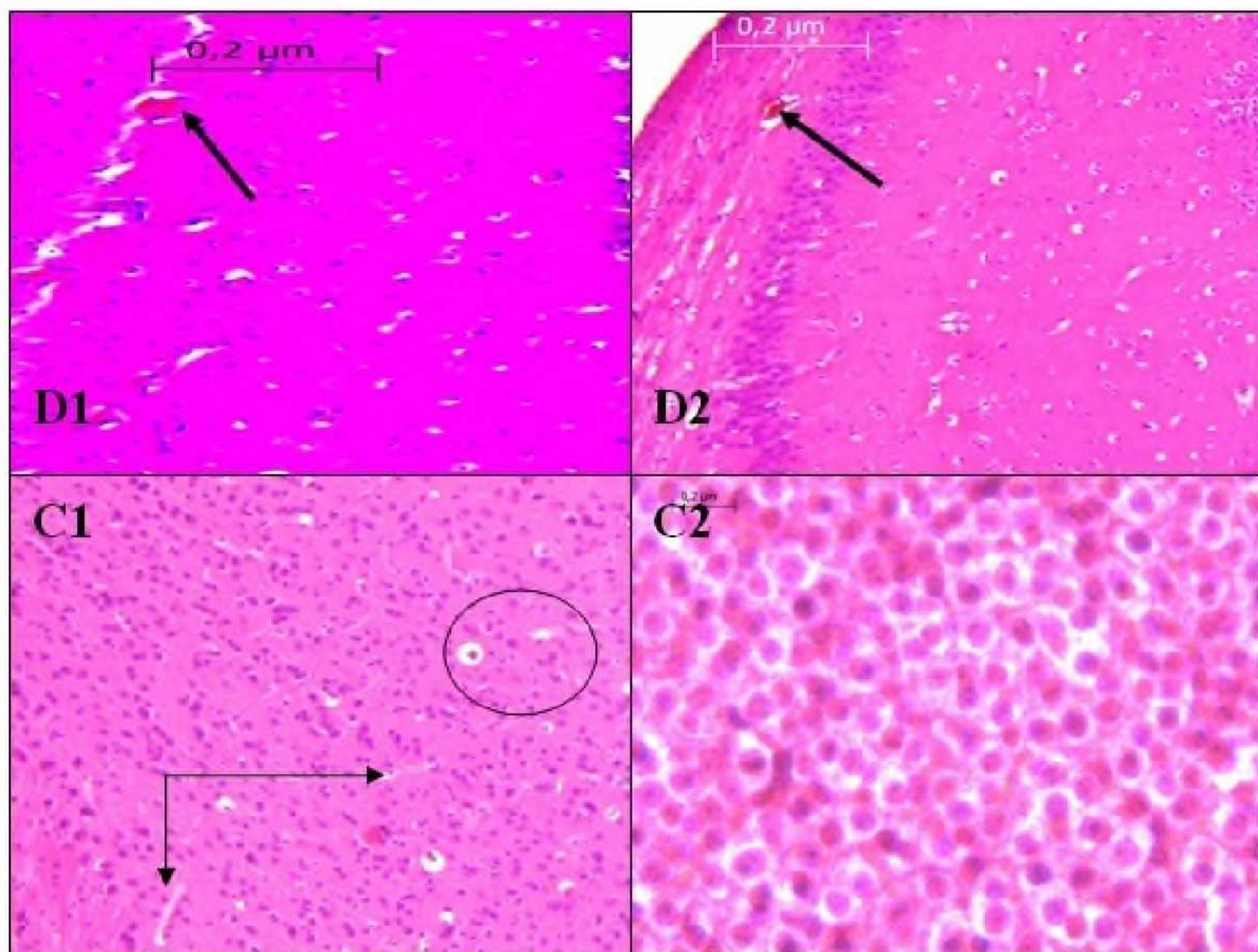


Figure 24 : Coupe histologique du cerveau montrant la présence de vaisseaux normaux et (D1 et D2) ($\times 4$) la présence de d'halo clair, présence d'halo clair périvasculaire dans (C1, C2) ($\times G4$).

Diverses réponses histopathologique lors de la toxicité des pesticides pourraient apporter une relation entre le niveau d'accumulation du pesticide et diverses activités physiologiques et biochimiques de l'animal. Dans la Présenté étude, il est clairement indiqué que les pesticides GLYp et CPR Induit des changements pathologiques prononcés dans le cerveau de souris (Figure). Les réponses histopathologique des souris dans la présente étude révèlent le degré de dégâts causé par ce mélange de deux pesticides. L'ampleur des dégâts sur les cellules neuronales survenus une dilatation vasculaire dans le cerveau les résultats obtenus correspond à ceux entreprise par (Cope et al., 1970 et Sajitha Bhaskar,1994) une perte de différenciation, une répartition dispersée des cellules et une nécrose grave dans les cellules dans les différentes zones de cerveau selon les changements histologiques qui ont eu lieu dans la présente étude pour certaine souris traites, lors de période d'expérience dans le cerveau des souris, pourraient faire partie du mécanisme de défense. Sur une exposition prolongée pendant une période 30 jours en raison de l'accumulation supplémentaire des pesticides dans le cerveau des souris, il a causé une destruction dans la structure du cerveau, les résultats obtenus dans ce travail sont en accord avec ceux trouvés par (lakshmaiah., 2016).

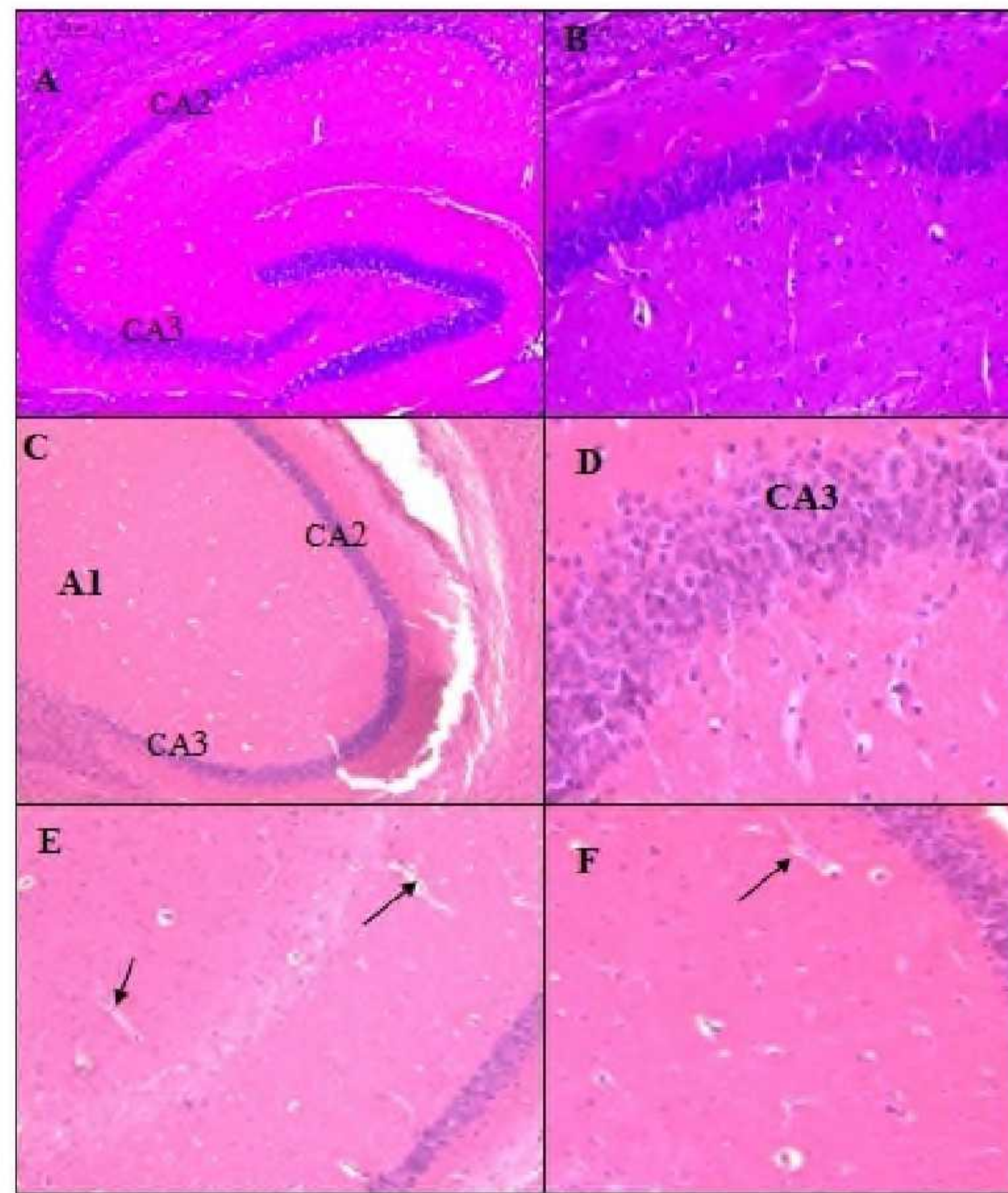


Figure 25 : Lésions microscopiques de l'hippocampe induites par le traitement au des pesticides GLYp et CPR.

- ❖ A-B : Groupe contrôle (G×4).
- ❖ C-D : Hippocampe : la nécrose légère des cellules pyramidales dans la zone (D- CA3) amène à une désorganisation de cette zone visualisable à faible grossissement (C) (G× 4) et (D × 10). Vacuolisation, et apparition de neurones noirs et nécroses.
- ❖ E-F : la présence de halo clair se forme Y (G× 4).

Dans le groupe traité, il a été observée la présence de nécrose neuronale (Figure), Elle concernait différentes régions spécifiques du cerveau, et était associée à une réaction gliale focale d'intensité variable. La neurotoxicité des pesticides GLYp et CRP a été caractérisée par des changements structuraux qui trouve son origine dans l'exposition chimiques. Les effets neurotoxiques impliquent l'entrée de l'agent chimique : pesticides dans l'organisme, la neurotoxicité touche plus facilement le système nerveux périphérique car le système nerveux central est protégé grâce à une série de facteurs et par la barrière hémato méningée (Costa et al., 2004), Cependant, certaines substances très petites ou lipophiles, telles que les CPF et GLYp sont susceptibles de passer cette barrière et d'atteindre le système nerveux central et touche des régions bien spécifique telle que l'hippocampe.

Ce dernier appartient notamment au système limbique et joue un rôle central dans la mémoire et la navigation spatiale. Il se situe dans le lobe temporal médian, sous la surface du cortex. Il se compose

de trois sous-structures : le subiculum, la corne d'Ammon (composée des aires ca1, ca2 et ca3), ces dernières ont été très étudié dans les systèmes de l'inhibition du comportement. L'hippocampe est une des premières structures atteintes dans la maladie d'Alzheimer, ce qui explique les problèmes de mémoire et de désorientation qui caractérisent l'apparition de cette pathologie neurodégénérative (Costa et al., 2008).

Des études ont prouvées que le CPF et GLYp provoque une lésion neuronale dans les régions CA1 et CA3 de l'hippocampe (Veronica et al., 2016) et des lésions au niveau de cortex primaire selon les études de (Rush et al., 2010) l'exposition répétée au pesticides GLYp et CPF provoque des dommages persistants au cerveau et changement du nombre de synapses ou de neurones dans la région CA3-CA1 des souris traitées (Terry et al., 2003), les pesticides induit une augmentation d'apparition des lésions cérébrales chez les souris. L'observation des coupes histologiques du cerveau des souris témoins a permis d'obtenir l'architecture cellulaire normale ; vaisseaux normaux et absence d'halo clair autour des vaisseaux figure (E-F flèche noir).

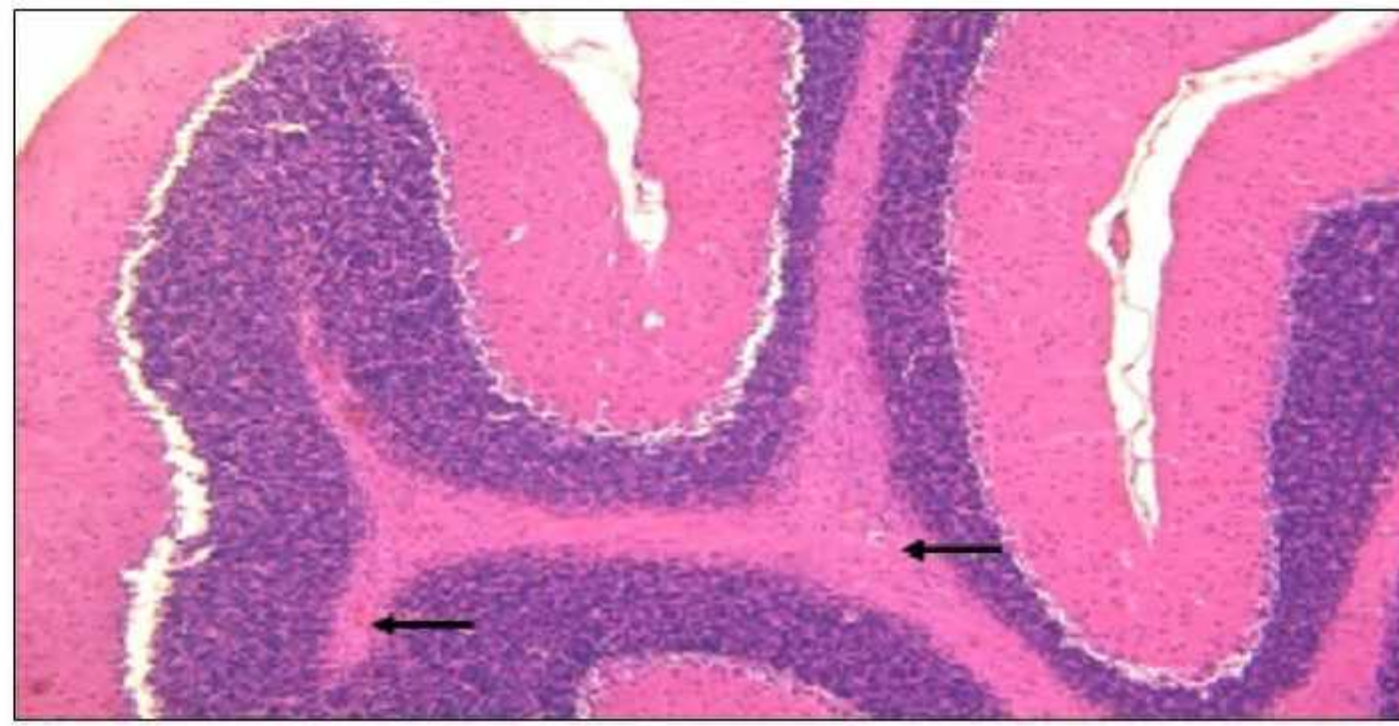


Figure 26 : L'examen du cerveau de souris traitées a révélé la présence d'œdème dans le cervelet (flèche noir)

Les résultats révèlent la présence de nécrose, d'œdème au niveau de cervelet, de formation vacuolaire, de congestion, de perte de structure, perte de cellules gliales et cellules de Purkinje (Figure). Plusieurs études concordent avec nos observations (Erhunmwunse et al., 2014). Dans un cadre plus large, comme l'on suggéré d'autres chercheurs (Grandjean and Landrigan, 2006), il est même logique de penser que toute substance neurotoxique, qui cible le fonctionnement des neurotransmetteurs du cerveau, est susceptible de produire des effets développementaux, puisque tous les neurotransmetteurs sont impliqués dans la régulation du développement de cet organe.

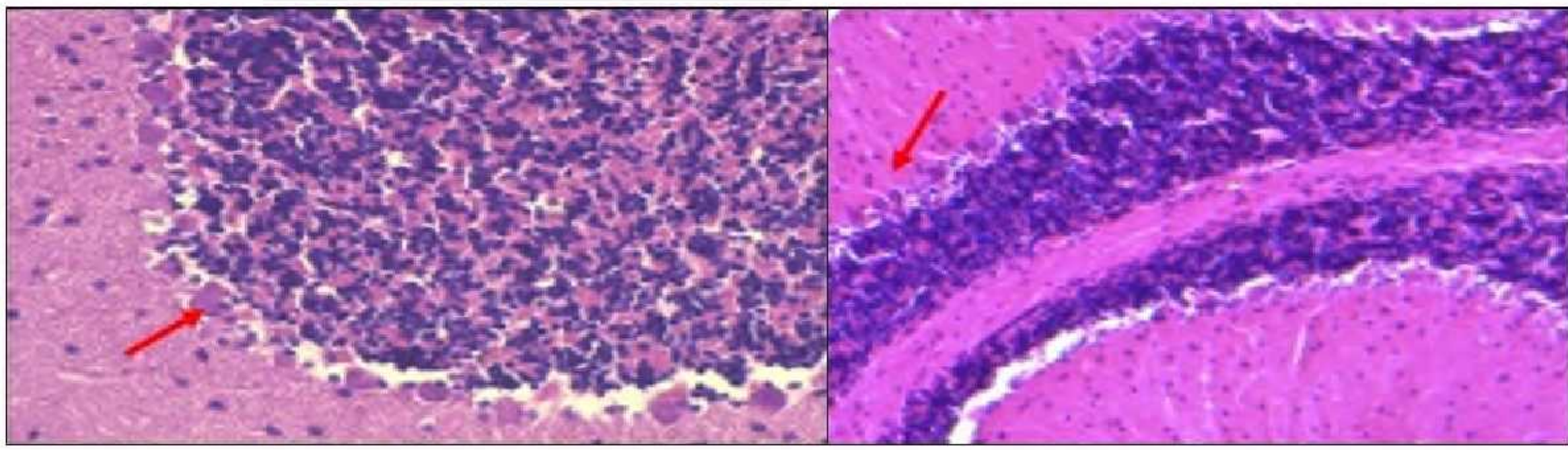


Figure 27 : Présente les cellules anormales la neurodégénérescence des cellules de Purkinje ($G \times 20$). Des cellules anormale un changement structuraux affectant les cellules de Purkinje et pouvant jouer un rôle dans la pathologie du tremblement essentiel. porte sur les modifications de l'arborisation dendritique des cellules. Dans le cervelet des souris un changement de structure des cellules de purkinji induit une perturbation de transport axonal et conduisent à la dégénérescence du neurone qui induit aussi une réduction significative de la complexité de l'arbre dendritique et de la densité des épines dendritiques (Figure), ceci est aussi obtenu dans les études de (Veronica et al., 2016).

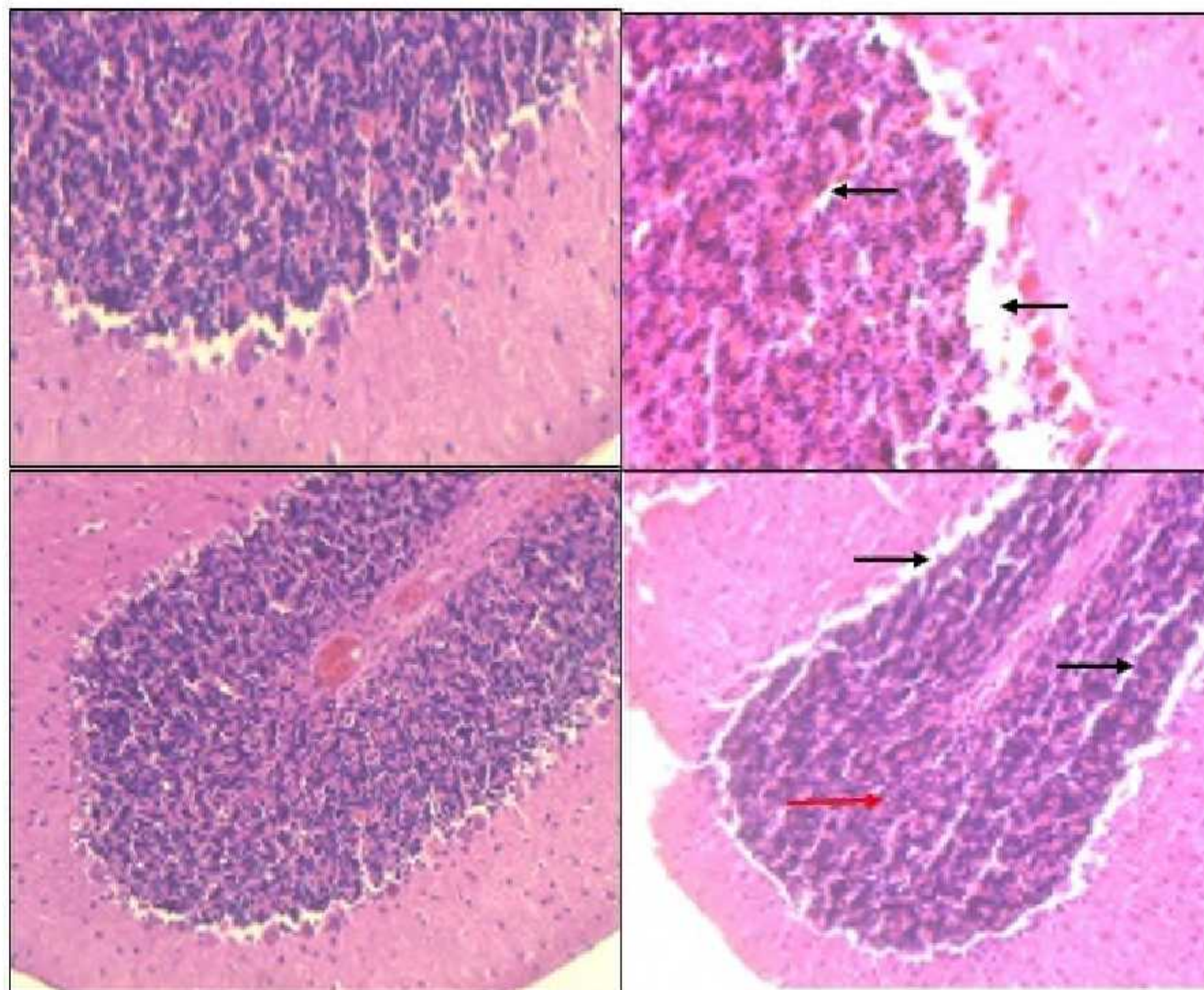


Figure 28 : Coupe histologique du cerveau montrant les cellules de Purkinje du cervelet des souris traitées avec CPF et Gly à ($G20$). Diminution du nombre de cellules. 'Flèche noire congestion et nécrose des cellules granuleuses.

Les résultats ont prouvé que le glyphosate et CRP ont causé des lésions importantes, des changements et des dommages oxydatifs. Néanmoins, l'analyse histologique du cerveau indique une grande différence en comparaison avec les échantillons témoins. Des lésions au niveau de

l'hippocampe et du cervelet ainsi que des lésions oculaires ont été rapporté par la bibliographie comme induit par le GLYp. Nos résultats ont montré que l'exposition professionnelle aux pesticides GLYp et CRP augmente significativement le risque d'avoir des lésions cérébrales au niveau l'hippocampe en particulier, selon (**Junqueira et al., 1988 ;Gasnier, 2009**). Les travaux précédents ont prouvé que les effets toxiques du glyphosate et CPR peuvent être associées à des dommages cérébrales comme l'Alzheimer (**Kathleen et al., 2010**). Le chlorpyrifos cause aussi des effets délétères sur l'acétylcholinestérase induisant l'inhibition à la synapse du système nerveux central et périphérique produisant nausées, vomissements, salivation, diarrhées, tremblement et convulsions (**Lotti et al., 1987**). L'effet de CPF sur le système nerveux central ne se limite pas à l'inhibition de l'acétylcholinestérase centrale. En effet, il est impliqué dans les lésions cérébrales comme œdème cellulaire, nécrose neuronale, la convulsions entraînées par les deux pesticides, le glyphosate affect l'absorbtion et la libération de Ca^{2+} et le métabolisme de glutamate dans les cellules neuronales conduisant à un afflux de Ca^{2+} à travers les récepteurs NMDA dans le cerveau , les deux pesticides sont également susceptibles de produire des altérations du fonctionnement des facteurs neurotrophiques, de leurs récepteurs et de la cascade de signalisation qui contrôlent la différenciation cellulaire et la formation des circuits nerveux (**Lima et al., 2007**).

Les lésions microscopiques sont aussi dues à l'effet délétère du stress oxydatif engendré par les pesticides. En effet il a été démontré que le CPF diminuait l'activité des antioxydants endogène dans le cerveau induisant la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces dernières s'attaquent aux macromolécules cérébrales induisant des modifications structurales, fonctionnelles et même des lésions nécrosiques des altérations de la prolifération, de la différenciations et de la synaptogenèse même Des troubles cognitifs selon les études de (**Sandahl et al.,2004**).

Conclusion et perspective

Conclusion et perspectives

Une attention particulière devrait être accordée aux effets possibles des divers substances toxiques présentes dans l'environnement; en particulier celles avec une faible toxicité qui sont présents dans les aliments et l'eau et environnements. Ces sources artificielles, conditionnent notre environnement électromagnétique. Les risques sur la santé, liés à cet environnement électromagnétique sont l'objet d'études approfondies et d'intenses débats depuis déjà de nombreuses années.

L'effet du téléphone mobile sur le cerveau concernant les effets mutagènes, la réponse au stress, les changements dégénératifs, les neurones mourants ou effets sur la fuite de la barrière hémato-encéphalique. La présente étude portant sur l'évaluation de l'effet neurotoxique sur le nombre de cellules pyramidales, l'architecture de l'hippocampe, chez les animaux exposés au GSM a révélée un grand effet neurotoxique de ces ondes sur le cerveau des souris.

Comme pour l'ensemble des substances toxiques, ces effets dépendent des caractéristiques propres des substances (structure chimique et physique, présence d'impuretés), des conditions d'exposition (dose, durée, fréquence et voie d'exposition).

Les pesticides forment un groupe important de substances chimiques qui peuvent contaminer l'écosystème aboutissant à l'exposition. Douze millions d'enfants, rien qu'aux Etats-Unis, souffrent de troubles de l'apprentissage, d'altérations neuro-développementales et comportementales liées à une exposition environnementale à différents produits chimiques dont certains insecticides.

Malgré les efforts déployés pour développer des méthodes alternatives, les pesticides sont toujours le moyen de lutte prédominant et leurs résidus constituent une menace potentielle. Il est donc impératif d'étudier la toxicité des pesticides car ils ont été très cités pour leur cytotoxicité et génotoxicité. Cette étude représente une contribution importante à l'évaluation correcte de l'ampleur du risque sanitaire dû à l'exposition aux pesticides, particulièrement le chlorpyrifos et glyphosate.

Les résultats obtenus sur la neurotoxicité quelque soit pour les pesticides et les ondes du téléphone mobile peuvent être d'un grand intérêt et qui vont être exploitables en association avec des analyses histochimiques, immunochimiques, analyse stéréologique pour estimé Le nombre total de cellules pyramidales dans le CA et ou la DG de hippocampe, a fin d'évaluée l'effet neurotoxique a échelle moléculaire.

Entreprendre une série d'expériences portant sur les paramètres biochimiques et analyse immunohistopathologique, dans le but de caractériser et d'identifier les mécanismes responsable de l'activité neurotoxique quelque soit pour les ondes et les pesticides afin de fournir de nouvelles approches. Pour cela Il existe des solutions :

- Lorsque vous appelez quelqu'un, parlez seulement à votre interlocuteur lorsque la connexion a été établie.
- Evitez de mettre le portable sur l'oreille lors de la recherche.
- Contactez votre interlocuteur lorsque le niveau de réception/antenne relais est le meilleur.
- Même en veilleuse, le portable n'est pas inoffensif, il rayonne par phases. Faites attention en dormant, ne le gardez pas à coté de vous ou alors éteignez-le.
- Usage des oreillettes.
- Continuées a lavées vos aliments avec du vinaigre blanc, pour minimisées la contamination avec ces pesticides.

Ce sujet suscite un grand intérêt actuellement et mérite de réaliser plus de recherches en vue de mieux comprendre l'effet des ondes sur la santé humaine. Il serait également intéressant d'étudier les taux d'absorption de ces ondes par notre corps. Pour mieux étudier leurs méfaits sur la santé.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

Aldridge, J.E., Seidler, F.J., and Slotkin, T.A. (2004). Developmental exposure to chlorpyrifos elicits sex-selective alterations of serotonergic synaptic function in adulthood: critical periods and regional selectivity for effects on the serotonin transporter, receptor subtypes, and cell signaling. *Environ Health Perspect*, 112: 148-55.

Andrea J A. Chou C.K., Sheila A. J, and Eleanor R. A. (2003). Microwave Effects on the Nervous System. *Bioelectromagnetics Supplement*, 6 : 107-147.

Anne. L.M., Hélène Hirbec, a Xavier Bonnefont,b Alain Privat, a Jacques Vignon, a,1 and Rene' de S ezec. (2004). Acute exposure to GSM 900-MHz electromagnetic fields induces glial reactivity and biochemical modifications in the rat brain *Neurobiology of Disease*, 17 : 445-454.

Barcal, J., and Vozeh, F. (2007). Effect of whole-body exposure to high-frequency electromagnetic field on the brain cortical neuron and hippocampal activity in mouse experimental model. *NeuroQuantology*, 3 :292–303.

Bas, E., Odaci, H., Mollaoglu, K., and Kaplan, S. (2009). Chronic prenatal exposure to the 900 megahertz electromagnetic field induces pyramidal cell loss in the hippocampus of newborn rats. *Toxicology and Industrial Health*, 25: 377–384.

Ben Oujji. (2012) .D evveloppement de biocapteurs enzymatiques associ es   des polym eres   empreinte moléculaire (MIPs) pour la détection sélective et sensible des organophosphorés utilis es en oléiculture.65 -87.

Bradbury SP, Mc Kuin JM, Coats JR. 1987Physiological response of rainbow trout to active fenvalerate intoxication. *Pesticide Biochem. Physiol* ; 27:275-288.

Brillaud, E., Piotrowski, A., & Seze, R. (2007). Effect of an acute 900 MHz GSM exposure on glia in the rat brain: A time-dependent study. *Toxicology*, 238, 23–33.

Calvet, R. (2005). Les pesticides dans le sol : conséquences agronomiques et environnementales. Référence scientifique. *Editions France Agricole*, 641. France.

Cattani, D., de-Liz-Oliveira-Cavalli, V.L., Heinz-Rieg, C.E, Domingues, J.T, Dal-Cim, T., Tasca, C.I., Mena-Barreto-Silva. F.R., and Zamoner, A. (2014). Mechanisms underlying the neurotoxicity induced by glyphosate-based herbicide in immature rat hippocampus: involvement of glutamate excitotoxicity. *Toxicology*. 320: 34-45.

Colosio, C., Tiramani, M., and Maroni, M. (2003). Neurobehavioral effects of pesticides: state of the art. *Neurotoxicology*. 24(4-5): 577-91.

Cope OD, Waod WM, Wallen. Some chronic effects of D on the blue gills. *Trans Amer. Fish. Soc*, 1970; 99.

Costa, L. G., Aschner, M., Vitalone, A., Syversen, T., and Soldin, O.P. (2004). Developmental neuropathology of environmental agents. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 44: 87-110.

Costa, L. G. (2006). Currenta issues in organophosphate toxicology. *Clin. Chim. Acta* 366: 1-13.

Costa, L. G., Giordano, G., Guizzetti, M., and Vitalone, A. (2008). Neurotoxicity of pesticides: A brief review. *Front Biosci* 13: 1240-1249.

- Coullery, R.P., Ferrari, M.E., and Rosso, S.B. (2016). Neuronal development and axon growth are altered by glyphosate through a WNT non-canonical signaling pathway. *NeuroToxicology*, 52: 150-161.
- Croft, R.J., Hamblin, D.L., Spong, J., Wood A.W., McKenzie, R.J., Stough, C. (2008). The Effect of Mobile Phone Electromagnetic Fields on the Alpha Rhythm of Human Electroencephalogram. *Bioelectromagnetics*, 29: 1-10.
- D'Costa, H., Trueman, G., Tang, L., Abdel-rahman, U., Abdelrahman, W., Ong, K. and Cosic, I. (2003). Human brain wave activity during exposure to radiofrequency fields emissions from mobile phones. *Australasian Physical and Engineering Sciences in Medicine*, 26: 162-167.
- Drudge, J.E., Seidler, F.J., Meyer, A., Thillai, I., and Slotkin, T.A. (2003). Serotonergic systems targeted by developmental exposure to chlorpyrifos: effects during different critical periods. *Environ Health Perspect*, 111: 1736-1743.
- Estela C O, Carmen P, Guillermo E T and Luis J. (2011). When is adult hippocampal neurogenesis necessary for learning ? Evidence from animal research. *Rev. Neurosci*, 3 : 267–283.
- G Lakshmaiah. A Study on the effect of organophosphorus insecticide phorate on brain histopathology of the common carp *Cyprinus carpio*, *International Journal of Fauna and Biological Studies* 2016; 3(4): 39-43
- Gasnier, C. et al. (2009). Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines *Toxicology*, (262):184-19.
- Grandjean, P., and Landrigan, P.J. (2006). Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. *Lancet* 368, 2167-2178.
- Guénel P, De Guire L, Gauvin D, Rhainds M. (2003). Rayonnements non ionisants In : *Environnements et santé publique- Fondements et pratiques*, pp. 441-462
- Hadjem, A., Conil, E., Gati, A., Wong, M.F. and Wiart, J. (2010). Analysis of Power Absorbed by Children's Head as a Result of New Usages of Mobile Phone. *IEEE Transactions on Electromagnetic compatibility*, 52(4): 812-819.
- Hong, H.L., and Boorman, G.A. (1993). Residual myelotoxicity of lindane in mice. *Fundam Appl Toxicol*, 21: 500-507.
- Hooge R and Deyn PP. (2001). Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Research Reviews*, 36 : 60-90.
- Iwa, L., Per, E., Anders, F., Sonja, B., Henrik, V. (2015). Developmental neurotoxic effects of two pesticides: Behavior and biomolecular studies on chlorpyrifos and carbaryl. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 3: 125-132.
- Jokanović, M., Kosanović, M., Brkić, D., and Vukomanović, P., (2001). Organophosphate induced delayed polyneuropathy in man. *Clin Neurol Neurosurg*, 113: 7-10
- Junqueira, V., Simizu, K., Van-Halsema, L., Koch, O., Barros, S., and Videla, L. (1988). Lindane-induced oxidative stress. I. Time course of changes in hepatic microsomal parameters, antioxidant enzymes, lipid peroxidative indices and morphological characteristics. *Xenobiotica*, 18: 1297-1304.
- Kainz W., Casamento J.P., Ruggera P.S., Chan D.D., Witters D.M. (2005). Implantable cardiac pacemaker electromagnetic compatibility testing in a novel security system simulator. *IEEE Trans Biomed Eng*, 52 : 520-530.
- Kalender, S., Uzun, f.G., Durak, D., Demir, F., and Kalender, Y. (2010). Malathion-induced hepatotoxicity in rats: the effects of vitamins C and E. *Food Chem Toxicol*, 48 :633-638.
- Kathleen, C.R., Jess, R., Brenda, M., Susan, L.M., Kelly, S. and Louis J.S. (2010). The use of developmental neurotoxicity data in pesticide risk assessments. *Neurotoxicology and Teratology*, 32: 563–572.

- Kheifets, L., Repacholi, M., Saunders, R., & van Deventer, E. (2005). The sensitivity of children to electromagnetic fields. *Pediatrics*, 116, 03–313.
- Kurokawa Y, Kubuto M. (2010). Power-frequency magnetic fields and childhood brain tumors: A case-control study in Japan. *Journal of Epidemiology* 20:54–61.
- Kwan-Hoong, N.G. (2003). Non-Ionizing Radiations—Sources, Biological Effects, Emissions and Exposures Proceedings of the International Conference on Non-Ionizing Radiation at UNITEN (ICNIR2003) Electromagnetic Fields and Our Health.
- Lang, S. (2006). Recent Advances in Bioelectromagnetics Research on Mobile Telephony and Health. *An Introduction Progress in Electromagnetic Research Symposium*, 192-196.
- Li P, McLaughlin J, Infante-Rivard C. (2009). Maternal occupational exposure to extremely low frequency magnetic fields and the risks of brain cancer in the offspring. *Cancer Causes and Controls* 20:945–955.
- Lima, C.S., Nunes-Freitas, A.L., Ribeiro-Carvalho, A., Filgueiras, C.C., Manhães, A.C., Meyer, A., et al. (2001). Exposure to methamidophos at adulthood adversely affects serotonergic biomarkers in the mouse brain. *Neurotoxicology*, 32(6): 718-24.
- Lisa k, Mathieu M.A, John P.A.(2015).Advances in the behavioural testing and network imaging of rodent recognition memory. *Behavioural brain Research*, 285 : 67-78.
- Lotti, M., and Moretto, A. (2005). Organophosphate-induced delayed polyneuropathy. *Toxicol Rev*, 24(1): 37-49.
- Lucio, G.C., Gennaro, G., Marina, G., Annabella, V. (2008). Neurotoxicity of pesticides: a brief review. *Frontiers in Bioscience*, 13, 1240-1249.
- Ludmila, J. and Xavier, C. (2014). Alimentation, pesticides et pathologies neurologiques. *Cahiers de nutrition et de diététique*, 49:74-80.
- Mausset A.L., Rene S , Francoise M, Alain P. (2001). Effects of radiofrequency exposure on the GABAergic system in the rat cerebellum: clues from semi-quantitative immunohistochemistry. *Brain Research*, 5 : 33–46.
- McCormack, A.L., Atienza, J.G., Johnston, L.C., Andersen, J.K., Vu, S., and Di-Monte, D.A. (2005). Role of oxidative stress in paraquat-induced dopaminergic cell degeneration. *J Neurochem*, 93(4): 1030-1037.
- Md. Torequl Islam. (2017). Radiation interactions with biological system, *International Journal of Radiation Biology*, 1362-3095
- Mezei, G., Gadallah, M., and Kheifets, L. (2008). Residential magnetic field exposure and childhood brain cancer. *Epidemiology* ,19: 424-430.
- Moore, P.D., Yedjou, C.G., and Tchounwou, P.B. (2010). Malathion-induced oxidative stress, cytotoxicity, and genotoxicity in human liver carcinoma (HepG2) cells. *Environ Toxicol*, 25: 221-226.
- Moreno, M., Cañadas, F., Cardona, D., Suñol, C., Campa, L., Sánchez-Amate, M.C., et al. (2008). Long-term monoamine changes in the striatum and nucleus accumbens after acute chlorpyrifos exposure. *Toxicol. Lett*, 176(2): 162-7.
- Moulder, J.E., Foster, K.R., Erdreich, L.S., Mcnamee, J. P. (2005). Mobile phones, mobile phone base stations and cancer: a review. *Int. J. Radiat. Biol*, 81, 189-203.
- Preece, E.W., Iwi, G., Davies-Smith, A., Wesnes, K., Butler, S., Lim, E., and Varey A. (1999). Effect of a 915-MHz simulated mobile phone signal on cognitive function in man. *INT. J. RADIAT. BIOL*, 75(4): 447-456.
- Ragbetli MC, Aydinlioglu A, Koyun N, Ra_gbetli C, Karayel M. (2009). Effect of prenatal exposure to mobile phone on pyramidal cell numbers in the mouse hippocampus: A stereological study. *International Journal of Neuroscience* 119: 1031-1041

- Regel SJ, Tinguely G, Schderer J, Adam M, Kuster N, Landolt HP, Achermann P. (2007). Pulsed radio-frequency electromagnetic fields: Dose dependent effects on sleep, the sleep EEG and cognitive performance. *Journal of Sleep Research* 16:253–258.
- Reister, H., Dimpfel, W., and Schober, F. (1995). The influence of electromagnetic field on human brain activity. *European Journal Medical Research*, 1 : 27–32.
- René, D.S., and Elsa, B. (2006). Téléphones mobiles et neurotoxicité pour le système nerveux central. *Environnement, risques & santé*, 5: 107-119.
- René, H. (1984). Techniques d'histopathologies et de cytopathologie, 1ère édition, Montérial, 400p.
- Saito, T., Nitta, H., Kubo, O., Yamamoto, S., Yamaguchi, N., Akiba, S., Honda, Y., Hagihara, J., Isaka, K. et al. (2010). Power-frequency magnetic fields and childhood brain tumors: A case-control study in Japan. *Journal of Epidemiology*, 20 : 54–61.
- Sandahl, J.F., D.H. Baldwin, J.J., Jenkins, N.L., and Scholz, E (2005). Comparative thresholds for acetylcholinesterase inhibition and behavioral impairment in coho salmon exposed to chlorpyrifos. *Environmental Toxicology and Chemistry* références de chlorpiryphose le mécanisme moléculaire
- Schmid, E and Schrader, T. (2007). Different biological effectiveness of ionising and non ionising radiations in mammalian cells *Adv. Radio Sci*, 5 : 1–4.
- Sèze., R. (2002). Mécanismes d'interaction des champs électromagnétiques avec les systèmes biologiques. *Verneuil-en-Halatte – France*, 2 : 1-26.
- Smit, L.A.M., van-Wendel-de-Joode B.N., Heederik, D., Peiris-John, R.J, and van-der-Hoek, W. (2003). Neurological symptoms among Sri Lankan farmers occupationally exposed to acetylcholinesterase-inhibiting insecticides. *Am J Ind Med*. 44(3): 25-64.
- Sultatos, L.G.,Costa, L.G. and Murphy, S.d.(1982). Factors Involved in the Differential Acute Toxicity of the Insecticides Chlorpyrifos and Methyl Chlorpyrifos and Methyl Chlorpyrifos in Mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 65 : 144-156.
- Ting, D.(2007). Public Glyphosate in drinking water California Public Health Goal. California: Pesticide and Environmental Toxicology Branch office of Environmental Health Hazard Assessment California Environmental Protection Agency.30p

ANNEXE

ANNEXE :

Tableau3 : les différentes matériels et équipements de laboratoire

<i>Produit chimique</i>	<i>Matériels et équipements de laboratoire</i>
<ul style="list-style-type: none">-Xylène .-Hématoxylène.-Eosine.-Paraffine (SIGMA-ALDRICH).-Ethanole de bio-chem chemopharma.-Chloroforme (SIGMA-ALDRICH).-Formole.-Eukitte (bio-chem chemopharma).-Chlorpyriphos(pyrycal 480).-Glyphosate(Roundup 480).	<ul style="list-style-type: none">-L'automate (LEICA TP 1020).-Appareil paraffine (LEICA EG 1150H).-Plaque réfrigérants (LEICA EG 1150C).-Microtome (LEICA RM 2125 RTS).-Plaque chauffant(LEICA HI 1220).-Etuve (BIENDER).-Lame,lamelle et histocassette .-Balance analytique de précision.-Bécher, tube a assai, seringues.-Micropipette 1000 µL.-Trousse de dissection.-Microscope de dissection LEICA.-Epingles, scotche, ampoule.-Téléphone (samsung).-Une chambre en polystyrène et en bois.-Piscine.-Boite en cartonne et en bois, lego, dominos.

Résumé

Au cours des dernières décennies, les activités humaines ont entraîné l'apparition ou l'augmentation de certains polluants environnementaux. En parallèle une progression de l'incidence de certaines maladies chroniques comme des cancers, des maladies neurodégénérative ou encore des troubles de la reproduction a été observée.

L'objectif de l'étude est d'évaluer l'effet neurotoxique qui sont dus à expositions des pesticides et aux champs électromagnétiques. De nombreuses craintes sont aujourd'hui formulées quant à l'innocuité des champs de radiofréquences sur la santé. Parmi celles-ci des perturbations de la neurophysiologie et plus spécifiquement l'hippocampe ont été évoquées.

Lors de l'exposition des souris à un champ électromagnétique GSM de 900MHz ou 1800MHz pour des puissances athermiques, des résultats significatif ont pu être mis en évidence sur la neurophysiopathologie de l'hippocampe. Parallèlement à cette étude, une étude de test de mémoire (reconnaissance d'objet et la piscine de Morris), ont été réalisées. Ces études également ont montré d'effets des ondes électromagnétiques sur les capacités cognitives et de mémoire de référence.

Compte-tenu de l'importance des populations exposées, les effets à long terme des pesticides sont un enjeu de santé publique majeur. Notre objectif était de contribuer à la connaissance des effets

Sub-chroniques des pesticides sur le système nerveux central en explorant par une approche le rôle des insecticides organophosphorés dans l'apparition de trouble neurodégénérative.

Mots clés : Pesticides ; champs électromagnétiques ; neurotoxicité ; exposition aux ondes du téléphone portable ; cerveau ; hippocampe.

Abstract

Over past decades, human activities have led to the emergence and the increase of environmental pollutants. In parallel, a progression of the incidence of some chronic diseases like cancer, neurodegenerative diseases and reproductive issues was observed. The objective of our study is to evaluate neurotoxic effects which is due to exposures to pesticides and electromagnetic fields, is to link with chronic diseases is exposure to pesticides and electromagnetic fields of mobile phone.

There are now many concerns about the safety of radiofrequency fields on health. Among these, disturbances of neurophysiology and more specifically the hippocampus were evoked.

When the mice were exposed to a GSM electromagnetic field of 900MHz or 1800MHz for (no thermic level) density, significant results could be demonstrated on the neurophysiological effect of the hippocampus. In parallel to this study, a memory test study (object recognition and the Morris pool) were carried out. These studies also showed effects of electromagnetic waves on the cognitive and memory capacities of reference.

Given the importance of the exposed populations, the long-term effects of pesticides are a major public health issue. Our objective was to contribute to the knowledge of the subchronic effects of pesticides on the central nervous system by exploring by an approach the role of organophosphorus insecticides in the appearance of neurodegenerative diseases.

Keywords: Pesticide; Electromagnetic fields; Neurotoxicity; Exposure to mobile phone waves; brain; Hippocampus.

ملخص :

على مدى العقود الماضية ، أدت الأنشطة البشرية إلى ظهور الملوثات البيئية و زيادة هذه الملوثات . في موازاة ذلك لوحظ تطور في بعض الأمراض المزمنة مثل السرطان و امراض الأعصاب و القضايا الإنجابية.

الهدف من دراستنا هو تقييم الآثار السمية العصبية الراجع إلى التعرض للمبيدات الحشرات و الحقول الكهرومغناطيسية ، و ربطه مع الأمراض المزمنة و التعرض لمبيدات الحشرات و المجالات الكهرومغناطيسية للهاتف المحمول .

هناك الآن العديد من المخاوف بشأن سلامة مجالات الترددات الراديوية على الصحة ، من بين هذه اضطرابات في الفيزيولوجيا العصبية و بشكل أكثر تحديدا الحصين في الدماغ .

عندما تعرضت الفئران إلى المجال الكهرومغناطيسي 900 مغيرتر أو 1800 مغيرتر (لا حرارية) ، و التأثير يظهر نتائج هامة على الحصين ، و بالتوازي مع هذه الدراسة أجريت دراسة اختبار الذاكرة لعينة من الفئران للتعرف على الأشياء و مسبح موريس و

أظهرت هذه الدراسات أيضا آثار الموجات الكهرومغناطيسية على القدرات المعرفية و الذاكرة المرجعية .

و نظرا للخطورة فان المبيدات و الآثار الطويلة المدى التي يتعرض لها فئة معتبرة من السكان هي قضية رئيسية تتعلق بالصحة العامة ، و كان هدفنا هو المساهمة في معرفة الآثار غير المتزامنة للمبيدات الحشرية على الجهاز العصبي المركزي من خلال استكشاف نهج ودور المبيدات الحشرية الفسفورية العضوية في ظهور الأمراض العصبية .

الكلمات المفتاحية : المبيدات ، مجال كهرومغناطيسي ، السمية العصبية ، التعرض لموجات الهاتف المحمول ، الدماغ ، قرن امون ، الحصين