

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
Université dr. Moulay Tahar Saïda
Faculté des sciences
Département de biologie

Laboratoire de Biotoxicologie, pharmacognosie et valorisation biologiques des plantes



MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER EN
BIOLOGIE

Option : Biochimie et Physiologie Cellulaire

THEME

***Evaluation de l'effet d'une exposition aigue et
subchronique au 5-phenyl-1, 2,4-triazole-3-thiol
(5 PTT) sur le statut oxydant et neurocomportementale
chez des jeunes rats Wistar »***

Présenté par : - ADDAD HAFIDA
- KHODJA KHADIDJA.

Soutenu le : 21.06.2017 **Devant le jury composé de :**

Mr Ammam Abdelkader	Maître - assistante « A » U de Saïda	précédant
Mr Adli Djallel Eddine H	Maître - conférence « B » U de Saïda	Examineur
Meme Hadjadj Hassina	Maître - assistante « A » U de Saïda	promotrice

Année Universitaire : 2016-2017

Remerciements

Avant toute chose, nous tenons à remercier Dieu de tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience

*Et à travers ce modeste travail, nous remercions notre très chère promotrice **Hadjadj Hassina**, pour l'intéressante documentation qu'elle a mise à notre disposition, pour les conseils précieux et pour toutes les commodités et aisances qu'elle nous a apportées durant la préparation et la finalisation de ce projet.*

*Des remerciements au président de jury **Mr Amam Abdelkader** et aux examinateurs : **Mr Adli Djallel***

Eddine H

Et d'avoir accepté de juger ce travail

*Nous remercions **Mustapha, Narimane, Wafaa, et Ali**, qui nous ont aidés dans notre travail.*

*Nous remercions **Dr. Kahloula Khalef** qui nous a aidés dans notre travail et qui nous a donné assez de temps pour étudier*

Nous remercions tout les enseignants qui ont attribués à notre formation durant les années d'études

Nos remercions nos collègues pour les sympathiques moments passés ensemble.



Dédicace

*C'est avec un très grand honneur que je dédie ce
modeste travail aux personnes les plus chères au
monde*

*Mes parents qui m'ont permis de continuer mes
études dans les meilleures conditions et qui
m'ont appris à ne jamais baisser les bras.*

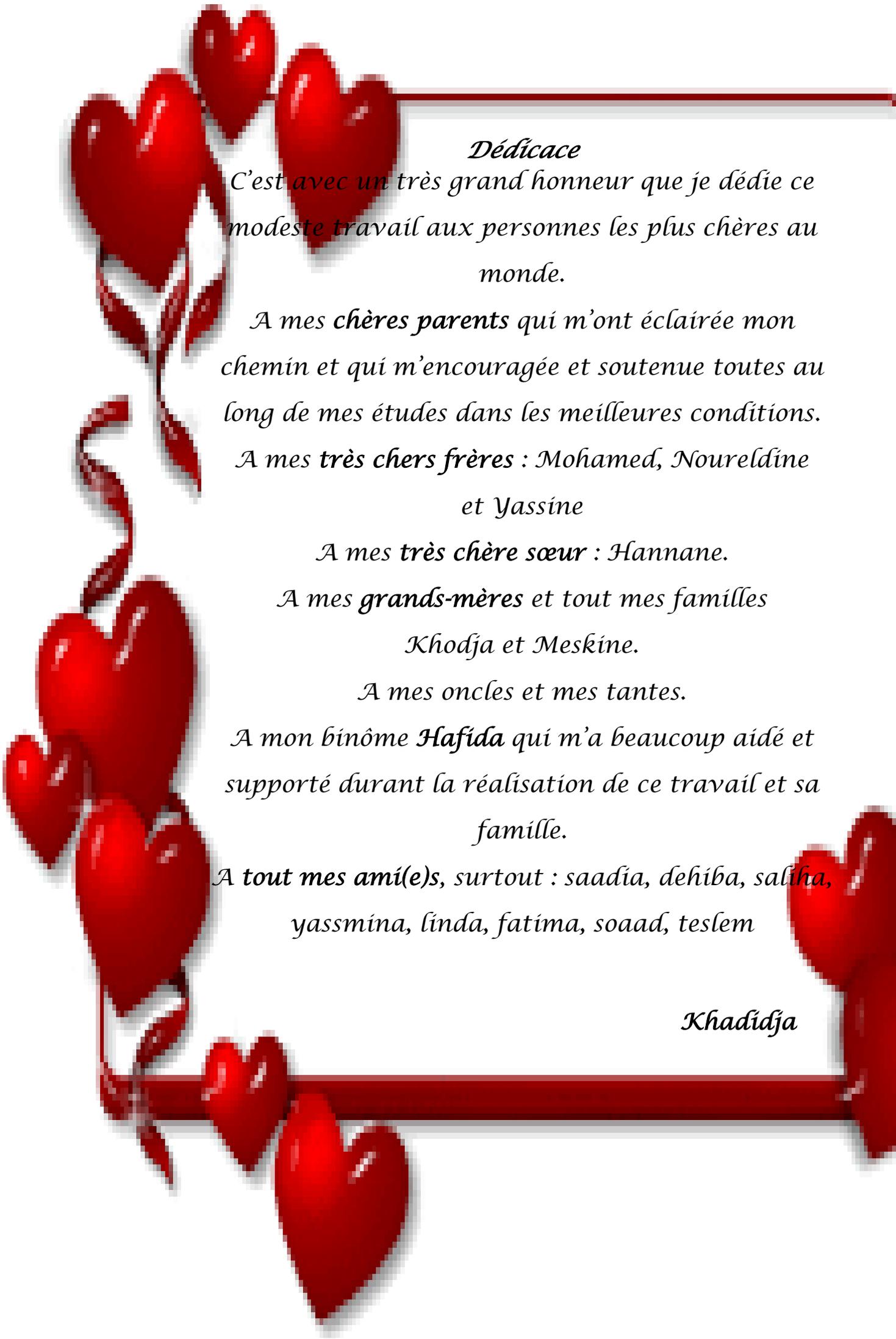
*Je dédie aussi cette modeste réalisation à :
mon très cher frère : youcef , yasser , younes
mes très chères soeurs : fatima , zahia*

*Ma famille addad et della
mon binôme khadidja qui m'a beaucoup aidé et
supporté*

*Durant la réalisation de ce travail Et sa famille
Ainsi que pour tout mes ami(e)s*

*A toute ma promotion
A tous ceux qui m'aiment
A tous que j'aime*

Hafida



Dédicace

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde.

A mes chères parents qui m'ont éclairée mon chemin et qui m'encouragée et soutenue toutes au long de mes études dans les meilleures conditions.

A mes très chers frères : Mohamed, Noureldine et Yassine

A mes très chère sœur : Hannane.

*A mes grands-mères et tout mes familles
Khodja et Meskine.*

A mes oncles et mes tantes.

A mon binôme Hafida qui m'a beaucoup aidé et supporté durant la réalisation de ce travail et sa famille.

A tout mes amí(e)s, surtout : saadia, dehiba, salha, yassmina, linda, fatima, soaad, teslem

Khadidja

Résumé :

L'objectif de cette étude est d'évaluer les modifications d'ordre comportemental et d'évaluation le statut oxydatif au niveau cérébral chez des rats wistar, suite à une exposition aigue (200 mg/kg) et subchronique (10mg/kg) au 5-phenyl-1,2,4-triazole-3-thiol (5PTT).

L'exposition à une dose 10mg/kg au 5PTT indique une baisse significative de poids corporel et cérébral chez les rats traités par le 5PTT par rapport aux rats témoins ($p < 0,001$; $p < 0,01$) respectivement.

En effet, cette exposition a permis d'observer dans le test d'open Field une diminution significative dans le nombre des carreaux a traversée et le nombre de redressement qui atteste une hypoactivité locomotrice. De plus, le test de dark and light nous a révélé une augmentation significative du temps passé dans l'obscurité (dark) chez les rats exposés au 5PTT, alors que le temps passé dans la lumière chez rats traités est inférieur à celui des rats témoins ($p < 0,001$; $p < 0,01$) respectivement.

Dans la même série expérimentale, le test de labyrinthe de Barnes, nous avons enregistré une augmentation dans le nombre d'erreur et le temps écoulé avant de trouver la cible des rats traités par 5PTT par rapport aux rats témoins ($p < 0,01$; $p < 0,01$) respectivement.

L'analyse statistique révèle que durant le test du Dark and Ligh, le temps passé dans l'obscurité (dark) chez les rats exposés au 5PTT sont significativement augmentés ($p < 0,001$) par rapport aux sujets témoins, tandis que le temps passé dans le ligh ainsi que le nombre de transition chez les rats exposés au 5PTT sont significativement réduits ($p < 0,01$; $p < 0,05$) par rapport aux sujets témoins.

Toutefois, les analyses sériques des sujets exposés ont présentés des valeurs significativement supérieures en terme de glycémie ($p < 0,01$) et cortisolemie ($p < 0,01$) comparé au sujets témoin.

Par ailleurs, l'exposition aigue au 5PTT à une dose de 200 mg/kg chez les rats a généré un état de stress oxydant démontré par une diminution de quelques marqueurs enzymatiques comme l'activité de la catalase et le glutathion peroxydase.

En conclusion, l'exposition aigue et subchronique au 5 PTT à entrainer des modifications d'ordre comportementale qui reflète l'action délétère de ce composé sur les différents organes privilégiés à savoir le cerveau.

Mots clés : 1,2,4-triazole 3-thiol, activité locomotrice, anxiété, cerveau, stress oxydatif.

Abstract :

The objective of this study was to evaluate the behavioral and evaluation changes in oxidative status at the cerebral level in wistar rats following acute (200 mg / kg) and subchronic (10 mg / kg) exposure 5-phenyl-1,2,4-triazole-3-thiol (5PTT).

Exposure at a dose of 10mg / kg to 5PTT indicated a significant decrease in body and cerebral weight in rats treated with 5PTT compared to control rats ($p < 0.001$; $p < 0.01$), respectively.

Indeed, this exposure made it possible to observe in the open field test a significant decrease in the number of tiles crossed and the number of straightening which attests a locomotor hypoactivity. In addition, the dark and light test revealed a significant increase in dark (dark) time in rats exposed to 5PTT, while the time spent in the light in treated rats was lower than that in the control rats ($P < 0.001$, $p < 0.01$), respectively.

In the same experimental series, the Barnes maze test, we recorded an increase in the number of errors and the time elapsed before finding the target of the rats treated with 5PTT compared to the control rats ($p < 0.01$; $P < 0.01$), respectively.

Statistical analysis revealed that during the Dark and Ligh test, dark time in rats exposed to 5PTT was significantly increased ($p < 0.001$) compared to control subjects, whereas time spent in dark The ligh and the transition number in rats exposed to 5PTT were significantly reduced ($p < 0.01$; $p < 0.05$) compared with control subjects.

However, serum analyzes of the exposed subjects showed significantly higher values in terms of blood glucose ($p < 0.01$) and cortisolia ($p < 0.01$) compared to control subjects.

In addition, acute exposure to 5PTT at a dose of 200 mg / kg in rats resulted in an oxidative stress state demonstrated by a decrease in some enzymatic markers such as catalase activity and glutathione peroxidase.

In conclusion, acute and subchronic exposure to the PTT leads to behavioral changes that reflect the deleterious action of this compound on the various privileged organs, namely the brain.

Key words: 1,2,4-triazole 3-thiol, locomotor activity, anxiety, brain, oxidative stress.

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des Figure

Liste des tableaux

Introduction générale.....1

Chapitre 01 :

I. Définition de Triazole.....4

1,2,4-Triazole.....4

II. Propriétés de triazole.....5

II.1 Propriétés physico-chimiques.....5

II.2 Propriétés biologiques des triazoles5

II.3 Propriétés structurales des triazoles.....6

III. Applications et activités de triazole.....6

III.1 Applications agricoles.....6

III.2 Applications pharmacologiques.....6

III. 3 Applications industrielles.....7

IV. Mode d'action de triazole.....7

V. Les activités du triazole.....8

V.1 Activités antifongiques.....8

V.2 Activités anti-inflammatoires.....8

V.3 Activités antioxydants.....8

VI. Toxicocinétique du triazole.....9

A/ Absorption.....9

B/ Distribution.....9

C/ Métabolisme.....9

D/ Elimination.....10

VII. L'effet toxique du triazoles.....10

VII. 1 Effet sur le système nerveux.....10

VII. 2 Effets hépatiques.....10

VII. 3 Effets sur le développement.....11

Chapitre 02 :

I. Définition.....13

II- Origine du stress oxydant.....13

III. Les radicaux libres (RL).....14

III. 1 Définition.....14

III. 2 Les radicaux libres dans les systèmes biologiques.....15

III. 4 Classification des radicaux libres.....16

VI. Mécanismes antioxydants.....16

VI.1 Antioxydants enzymatiques.....16

VI. 1.1 Les catalases(CAT).....16

VI. 1.2	Glutathion peroxydase.....	17
VI.2	Antioxydants non enzymatiques.....	17
VI.2.1	Le glutathion réduit (GSH).....	17
Chapitre 03 :		
I.	Développement et organisation du système nerveux central.....	19
II.	Anatomie de cerveau.....	21
II. 1.	<i>Structure externe.....</i>	21
II.1.1.	L'encéphale de l'homme.....	21
II. 2	Structure interne.....	22
III.	protection du Cerveau.....	23
IV	L'encéphale du rat.....	24
V	Anomalie de cerceau.....	26
Matériels et méthode		
I.	L'objectif.....	28
II.	Matériel biologique utilisé.....	28
II.1	Animaux d'expérimentations.....	28
II.2	la synthèse de 5-phényl 1,2,4 triazole. 3-thiol.....	28
II. 3	Préparation de la solution d'injection.....	30
III.	Protocole expérimental.....	30
III.1	Le traitement des rats.....	30
Partie I : exposition subchronique.....		
I.1	Répartition des groupes.....	30
I.2	Evaluation du poids corporel.....	31
I.3	Etude du comportement de l'animal.....	31
I.3.1	Test l'open Field.....	31
I.3.2	Labyrinthe de Barnes.....	32
I.3.3	Test obscurité/lumière.....	34
I.4	Sacrifices des rats.....	34
I.4.1	Sacrifices des rats et prélèvement des échantillons.....	34
I. 4.1.1	Prélèvement des organes.....	35
I.4.2	Dosage biochimique.....	35
I.4.2.1	Dosage de glucose.....	35
I.4.2.2	Dosage du cortisol.....	35
Partie II : exposition aigue.....		
II. 1	Sacrifices et prélèvements d'organes.....	36
II.2	Dosage des paramètres du stress oxydant.....	37
II.2.1	Préparation de l'homogénat.....	37
II.2.2	Dosage des protéines.....	37
II.2.5	Dosage du glutathion réduit (GSH).....	37
II.2.3	Dosage de l'activité du glutathion peroxydase (GSH-Px).....	39
II.2.4	Dosage de l'activité enzymatique de la catalase(CAT).....	40

Résultat et interprétation :	
I. Résultat d'exposition subchronique.....	42
I.1 La croissance pondérale et le poids de cerveau.....	42
I.1.1 La croissance pondérale.....	42
I.1.2 Le poids de cerveau.....	43
I.2 Les tests de comportement.....	44
I.2.1 Test de l'open Field.....	44
I.2.2 Le test de labyrinthe de Barnes.....	45
I.2.3 Test obscurité /lumière.....	46
II Dosage de glucose.....	46
III Résultat d'exposition aigue.....	48
III.1 Activité des enzymes du statut oxydants au niveau cervical.....	48
III.1.1 Glutathion peroxydase.....	48
III.1.2 Catalase.....	48
III.1.3 Glutathion réduit.....	49
Discussion.....	50
Conclusion.....	58
Référence bibliographique.....	60

Liste des abréviations:

AINS	anti-inflammatoires non stéroïdiens
ASS	l'acide sulfosalicylique
AVC	l'accident vasculaire cérébral
CAT	<i>catalase</i>
COX-1	la cyclooxygénase-1
COX-2	la cyclooxygénase_2
ΔDO	Variation de la densité optique
DFT	La dégénérescence fronto-temporale
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DO	Densité optique.
DTNB	Acide 5 ,5_dithiobis 2_nitrobenzoïque
EAA	Les espèces azotées actives
EDTA	acide éthylène diamine tétra acétique
EOA	Les espèces oxygénées actives
ERO	Espèces Réactives Oxydantes
ESA	Les espèces soufrées actives
Fd	Facteur de dilution
Ep	eau physiologie
GPx	glutathion peroxydases
GSH	glutathion réduit
GSSG	Disulfure de glutathion (Glutathion oxydé)
HOCl :	l'acide hypochloreux
H₂O :	Eau
H₂O₂ :	peroxyde d'hydrogène
IP :	intra-péritonéale
LCR :	le liquide céphalo-rachidien
LCS :	liquide cérébro-spinal
LPO :	Peroxydation lipidique
Na Cl	Chlorure de sodium
NADPH	Nicotinamide adénine diphosphate réduit
NO•	le monoxyde d'azote
N₂O•	dioxyde d'azote

O₂	Oxygène
O₂^{•-}	Anion superoxyde
¹O₂	Oxygène singulet
O₃	Ozone
OH•	radical hydroxyle
ONOO•	peroxynitrite
ONOOH	nitroperoxyde
pH	potentielhydrogène
5 PTT	5-phényl 1,2,4-triazole 3-thiol
RL	<i>Les radicaux libres</i>
RNS	Reactive Nitrogen Species
ROS	Le radical superoxyde Reactive Oxygen Species
ROOH	Hydroperoxyde
RS•	le radical thiyl
-SH	les groupements thiol du glutathion
TCA	Trichloroacétique.
UV	ultra violet

Liste des figures

Figure 01 : structure chimique de 1,2,3-triazole et 1,2,4-triazole.....	4
Figure 02 : les deux formes tautomères du 1,2,4-triazole.....	4
Figure 03 : balance entre les prooxydants (ERO) et les antioxydants.....	13
Figure 04 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie.....	14
Figure 05 : Organisation générale du cerveau.....	19
Figure 06 : coupe sagittale de cerveau.....	22
Figure 07 : chemin d'un cerveau humain.....	22
Figure 08 : Les systèmes de protection de cerveau.....	23
Figure 09 : Comparaison du cerveau du rat et du cerveau humain.....	25
Figure 10 : les rats d'expérimentation.....	28
Figure 11 : la synthèse de 5-phényl 1,2,4 triazole. 3-thiol.....	29
Figure 12 : 5-phényl 1,2,4-triazole 3-thiol 5-PTT.....	29
Figure 13 : la solution d'injection.....	30
Figure 14 : mesure de poids des rats.....	31
Figure 15 : test labyrinthe de Barnes	32
Figure 16 : test open Field.....	33
Figure 17 : test drak and light.....	34
Figure 18 : prélèvement de cerveau (1).....	35
Figure 19 : réaction d'Elman.....	38
Figure 20 : L'évolution du poids corporel des rats pendant 30 jours d'expérimentation..	42
Figure 21 : comparaison du poids du cerveau <i>entre les rats traités par 5 PTT et les rats témoins</i>	43

Figure 22: Apprentissage et mémoire dans le labyrinthe de Barnes.....	44
Figure 23 : Effet de l'exposition au 5 PTT sur l'activité locomotrice et comportement stéréotypé (Test open Field) comparés aux témoins.....	45
Figure 24: Exploration lors du test obscurité /lumière des rats.....	46
Figure 25: Comparaison entre la glycémie chez les différents groupes traités et non traités	47
Figure 26: <i>Comparaison du taux de cortisol entre les rats témoins et les rats exposés au 5PTT</i>	47
Figure 27: L'effet du 5 PTT sur l'activité enzymatique de la Catalase au niveau cervical des rats traités par 5PTT avec les témoins eau physiologique, et le DMSO.....	48
Figure 28 : comparaison de l'activité enzymatique de Glutathion peroxydase au niveau cervical des rats traites par 5PTT avec les témoins eau physiologique, et le DMSO.....	49
Figure 29 : L'effet du 5 PTT sur l'activité enzymatique de Glutathion peroxydase au niveau de cervical des rats traités par 5PTT avec les témoins eau physiologique, et le DMSO.....	49

Liste des tableaux:

Tableau 01 : quelques propriétés de triazole.....	5
Tableau 02: nature des différentes espèces radicalaires impliquées dans le stress oxydant	15
Tableau 04: principaux types et effets des espèces oxydantes.....	16

***Introduction
générale***

Introduction générale :

Dans nos jours il existe une préoccupation importante et constante dans la chimie des composés N-hétérocycliques, qui sont des composés comportant cinq chaînons et trois hétéroatomes (**Dani et al., 2014**);les plus communs sont l'azote, l'oxygène et le soufre (**Sharma et al., 2011**) . Le noyau triazole est l'un des hétérocycles les plus importants (**Filipov, Lawrence.2001**). Le 1,2,4-triazoles est bien connu pour son large éventail d'activités biologiques (**Kumudha, et al.2014**), il possède un puissant effet antifongique (**Lingappa et al.2008**) , antimicrobiens (**Shiradkar et al.2006**, . **Kumar, Rao.2008**), antiviral (**Kumar, Rao.2008**), anticonvulsivant (**Asif M.2015**), antitumoral (**Kumar et Rao.2008**), insecticide (**Gautam et Chourasia.2010**).

Cependant, Certains travaux ont montré que l'exposition au triazole provoque de nombreuses perturbations biochimiques affectant le métabolisme glucidique et lipidique qui se traduit par le changement de taux de glycémie , cholestérol et triglycéride (**Wada et al.2009**). (**Bonnard et al.2010**)

D'autre part, les études publiées par (**EPA.2006**) proposent que les triazoles présentent divers effets néfastes sur les systèmes biologiques des mammifères, en particulier sur le système nerveux. Le rapport de l'EPA montre donc que l'exposition aux triazoles, en général, provoque une neurotoxicité, dont en cité les lésions neuropathologies chez le cerveau du rat (**Santana et al.2009, Faro et al.2012**).

L'objectif de notre travail est d'évaluer le statut oxydatif au niveau cervical en avec une étude neuro-comportementale (dépression, activité locomotrice, apprentissage spatial et mémoire) des rats Wistar suite à une exposition aigue et subchronique au 5-phenyl-1, 2,4-triazole-3-thiol (5PTT).

*Revue
Bibliographique*

Chapitre 01 :

Le Triazole

I. Définition de Triazole:

Le triazole est l'un des classes de composés organiques hétérocycliques contenant une structure en anneau à diatomées à cinq chaînons composée de trois atomes d'azote et de deux atomes de carbone.

Le triazole est un cristal blanc à jaune pâle, solide avec une odeur faible et avec la formule moléculaire $C_2H_3N_3$, et un poids moléculaire de 69,06

Il se présente sous la forme d'une paire de composés chimiques isomères (**Rajeev et al., 2010**) (**Gilchrist TL.2005**) (**Figure 01**)

1,2,3- triazole ou v-triazole

1,2,4-triazole ou s-triazole

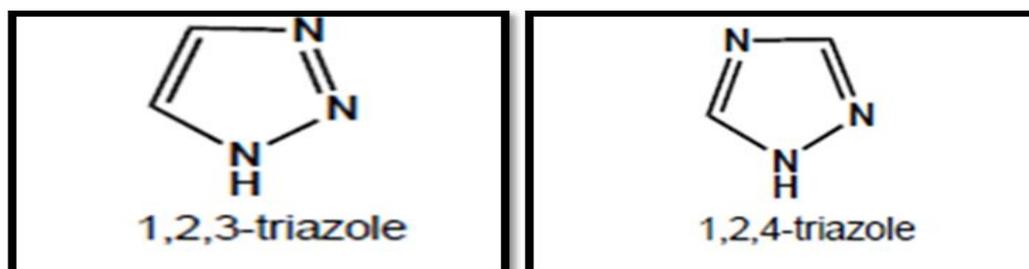


Figure01 : structure chimique de 1,2,3-triazole et 1,2,4-triazole(**Mohamed Oukessou,2014**)

I.1 1,2,4-Triazole:

1,2,4-triazole est un noyau extrêmement stable, il peut être considéré comme aromatique .(**Bladine et al.,1885**)ils existent sous deux formes tautomère ,la dénomination adoptée donne les chemical abstracts reste néanmoins celle de 1,2,4-triazoles en précisant sur quel azote se trouve l'hydrogène (**Bahnes zohra,2010**) (**Figure 02**)

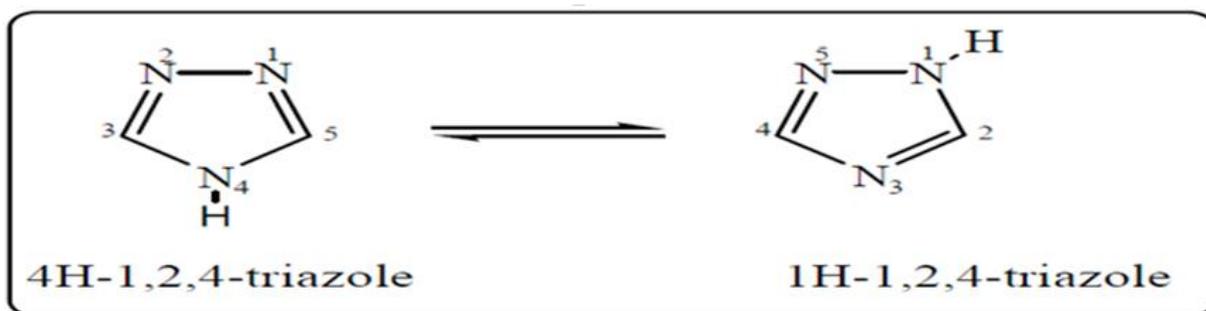


Figure 02 : les deux formes tautomères du 1,2,4-triazole (**Bahnes zohra,2010**)

II. Propriétés de triazole :

II.1 Propriétés physico-chimiques :

Les triazoles possèdent une structure pseudo-aromatique, qui se traduit notamment par une interaction entre les liaisons π (" π -stacking"), ainsi qu'un grand moment dipolaire et une grande capacité à former des liaisons hydrogène. (Abboud et al. 2001) Ce sont des composés très stables vis-à-vis d'autres réactifs chimiques, de l'oxydation et de la réduction.

Le **tableau 01** résume quelques propriétés des triazole (Mohamed OUKESSOU,2014)

Molécules	%N	$T_f(^{\circ}C)$	$T_{eb}(^{\circ}C)$	$\Delta H_f(kj/kg)$	pK_a	Moment dipolaire (10^{-30} cm)
1,2,3-triazole	61	23	203	2690	9.4	3.23
1,2,4-triazole	61	121	260	2345	10.1	9.61

Les dérivés de 1, 2, 4-triazole existent habituellement sous des formes solides. Les dérivés de 1, 2, 4-triazole existent habituellement sous des formes solides. 1, 2, 4-triazole fondent avec les dérivés de thermolyse à une température élevée lorsqu'elle est chauffée à $316^{\circ}C$ pendant 30 minutes. Les dérivés de 1, 2, 4-triazole sont facilement solubles dans les solvants polaires et seulement légèrement solubles dans solvants non polaires, cependant, la solubilité dans les solvants non polaires peut être augmentée par substitution sur l'atome d'azote. (Vandana Sharma et al., 2011) Certains dérivés triazoles présentent une certaine instabilité thermique, allant parfois jusqu'à l'explosivité telles que les dérivés nitrés de 1,2,4-triazoles, et les dérivés du 5-nitro-1,2,3-2H-triazole . (Mohamed Oukessou,2014)

II.2 Propriétés biologiques des triazoles :

Les triazoles possèdent un certain nombre de caractéristiques valorisables dans le contexte de la découverte de principes bioactifs susceptibles d'interagir avec des poches enzymatiques. Par exemple les triazoles sont stables à l'hydrolyse acide ou basique, ainsi qu'aux conditions de réduction ou d'oxydation. (Mohamed Oukessou,2014)

II.3 Propriétés structurelles des triazoles :

L'aromatique est la principale raison de la stabilité du noyau de triazole. Aussi, le noyau de triazole est stabilisé par la résonance qu'il peut être représenté par des formes tautomères. (Obot et Johnson, 2012) 1,2,4 triazoles ont deux formes tautomères: 1H-1, 2, 4-triazole et 4H-1,2,4-triazole. Beaucoup d'études ont indiqué que le tautomère est plus important que le tautomère. (Ozimin et al, 2003) Parmi les 1,2,4-triazoles substitués, le 3-mercapto-1, 2, 4- triazoles existent sous deux formes tautomères, c'est-à-dire mobiles l'hydrogène peut être fixé soit à l'azote (forme thion) ou le soufre (forme thiol) . Thion est la prédominante forme. (Pinto et al, 2007)

III. Applications de triazole:

III.1 Applications agricoles :

Les dérivés d'azoles ont été utilisés dans la protection végétale technologie comme pesticide. (Jess et al, 2014) Afin de contrôler de manière sélective la croissance des mauvaises herbes, une large gamme d'herbicides azoles ont été développés qui présentent (Selby, 2001):

- niveau élevé d'activité
- souplesse d'application
- la tolérance des cultures
- un faible niveau de toxicité pour les mammifères

Plus précisément, les triazoles jouent un rôle important parmi classes de composés hétérocycliques. (Dippold et Klapötke.2012)

III.2 Applications pharmacologiques :

Au cours des dernières décennies, les propriétés biologiques et pharmaceutiques du 1,2,4-triazoles ont été formées considérablement attention dans leur synthèse et leur caractérisation. 1,2,4- triazole et ses dérivés possèdent largement différents activités biologiques .(Rao et al.2014) L'échafaudage triazole est extrêmement polyvalent et a été présenté dans un certain nombre de drogues cliniquement utilisées, soulignant l'importance de ce noyau. Le plus des études pertinentes et récentes ont révélé que les dérivés de triazole ont un large éventail de activités pharmacologiques qui peuvent être classées dans les éléments suivants catégories: anti-inflammatoire, analgésique, anti obese, antidiabétique, immunomodulatrice. (Rajeev Kharb et al, 2010)

III. 3 Applications industrielles :

Certains triazoles sélectionnés ont été utilisés comme émetteurs de lumière diodes (appareils électroluminescents) (**KD. Dobbs.al.2014**). De nombreux types de le triazole a été utilisé pour augmenter l'efficacité du refroidissement des fluides (huile lubrifiante), tels que le 2-mercapto-1,2,4-triazole-2,4- dinitrobenzamide (**Hassan, & KW. Younus.2012**) . En outre, le triazole a été utilisé comme indicateur acide-base parce que il montre un changement de couleur réversible et transparent, nette et faible erreur relative (RE ~ 1,4%) dans la plage de pH 8,5-10,1. Certains systèmes de triazole ont une utilisation extensive dans la séparation d'argent provenant d'autres cations métalliques dans des systèmes à membrane liquide (**Izatt et al.1988**). En outre, ces composés sont utilisés comme synthétiques les colorants et les agents de blanchiment. (**Gudelj et al.2001**) De plus, les triazoles ont également ont été signalés comme des inhibiteurs de la corrosion de l'aluminium dans solution d'acide chlorhydrique. (**Sripriya et al.2013**)

IV. Mode d'action de triazole :

Les triazoles sont une famille de fongicides bien connue, qui regroupe notamment le cyproconazole, l'époxiconazole et le prothioconazole. Utilisés en agriculture depuis une bonne trentaine d'années, les triazoles ont une action à la fois préventive et dans une certaine mesure curative. Leur fonctionnement est spécifique : ils bloquent chez le champignon la synthèse des stérols, et plus précisément de l'ergostérol, en inhibant l'activité de la « 14 – α déméthylase ». Encore plus précisément, ils bloquent le site actif de cet enzyme qui est également un cytochrome P451 (CYP51p) en inhibant la synthèse d'ergostérol, indispensable à l'intégrité de la cellule, les triazoles provoquent la mort du champignon.

Les triazoles et imidazoles comportent tous un hétérocycle composé de trois atomes d'azote. L'un de ces atomes d'azote interagit avec le site actif de la 14 - α déméthylase. Le prothioconazole se distingue des autres triazoles par la présence d'un atome de soufre sur l'hétérocycle azoté. Toutefois, sous sa forme tautomérique avec un groupement thiol (SH) ou après élimination de l'atome de soufre, il présente une structure proche des autres triazoles. (**Perspectives Agricoles.2008**)

V. Les activités du triazole:

V.1 Activités antifongiques :

Les antifongiques sont la classe de médicaments utilisés pour éliminer infections fongiques du corps humain. Ils travaillent par exploitant les différences entre les cellules de mammifères et les cellules fongiques pour éliminer les organismes fongiques sans nuire aux cellules hôtes. Comme les deux cellules sont eucaryotes dans la nature, donc c'est plus difficile de concevoir les médicaments de l'activité antifongique avec une bonne sélection des cellules sans provoquer d'effets secondaires. (Tian.al.2012) Efinaconazole induite morphologique et changements ultra-structurels chez les lymphomes T. Mentagrophytes qui est devenu plus important avec des concentrations croissantes de médicaments. Le principal mécanisme d'action de l'efinaconazole est un blocage de la biosynthèse de l'ergostérol, vraisemblablement par l'inhibition du stéol 14 α -déméthylase, Conduisant à des changements dégénératifs secondaires. (Tatsumi.al.2013)

V.2 Activités anti-inflammatoires :

Utilisation thérapeutique de médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) qui sont utilisés dans le traitement d'un certain nombre des maladies arthritiques sont limitées en raison de leurs effets secondaires. (Akhter et al, 2014) Une série d'hybrides provenant du diaryl-1,2,4-triazole et de la N- L'hydroxyurée a été synthétisée, évaluée comme nouvelle agents anti-inflammatoires, et a montré un analgésique prometteur activité dans la réponse à la contorsion induite par l'acide acétique et à la chaleur. (Jiang et al, 2014) 1,3,4-thiadiazole et 1,2,4- des dérivés de triazole contenant une fraction phénylalanine pour Leur activité anti inflammatoire. L'anti-inflammatoire le criblage des composés triazole a établi que Les composés possèdent une activité comparable à d'autres normes anti-inflammatoires non stéroïdiens (Moise et al, 2009)

V.3 Activités antioxydants :

thiazolo-1,2,4-triazole-5 -ones à enquêter sur leur propriété antioxydants. Certains composé à la fois antioxydant et anti-inflammatoire activités ainsi que la faible incidence ulcérogène, étaient choisi pour l'étude de leur effet inhibiteur sur divers des enzymes cyclooxygénase. Bien qu'aucun inhibitions de la cyclooxygénase-1 (COX-1) d'enzyme a été trouvé, mais il y avait un petit effet inhibiteur sur la enzyme COX-2. Les effets néfastes sur la diminution des estomacs de ces nouveaux composés anti-inflammatoires étaient liés à leurs propriétés antioxydants, car il est inefficace sur l'enzyme COX-1.

La composé à la fois antioxydant et anti-inflammatoire ayant activités avec un manque de l'enzyme COX-1 'effet inhibiteur peut améliorer le profil de sécurité gastro-intestinal d'un tel composés (Aktay G.al., 2008)

VI. Toxicocinétique du triazole:

A/ Absorption :

L'absorption du triazole se fait rapidement et atteinte plus de 90 % de la dose absorbée dans 48 heures suivant l'administration. La biodisponibilité absolue du triazole après administration orale est environ 96% Son absorption n'est pas influencée par les changements de PH gastrique (PRD.2012).

Les concentrations sanguines se varient entre 1-27 heures environ après l'administration selon la dose et le sexe. Pour les doses uniques, les valeurs surviennent entre 1 et 8 heure pour la dose faible et entre 4et 27 h environ à la dose élevé (PRD, 2012).

B/ Distribution :

La majeure partie de triazole dans le plasma est liée aux protéines (99,8%), avec l'albumine comme principale composant de liaison (99,6% pour la métabolite hydroxy).

Il présente aussi affinité marquée pour les lipides .Seul 0,2 % de triazole est présent librement dans le plasma .Il présente un important volume de distribution apparent dans l'organisme se qui laisse suggérer une distribution étendue dans les tissus, les concentrations dans les poumons, les reins, le foies ,les os , l'estomac ,la rate et les muscles se sont avérées deux à trois fois plus élevées que les concentration correspondant dans le plasma, et l'assimilation dans les tissus kératinisés ,la peau en particulier ,est jusqu'à quatre fois plus élevée que dans la plasma.(Janssen,2013)

C/ Métabolisme :

Le 1,2,4-triazole est rapidement et extensivement absorbé par voie orale il est largement distribué dans l'organisme et très peu métabolisé il ne s'accumule pas il est éliminé rapidement, essentiellement dans les urines 2,3 % sous forme inchangée (ANSES,2011).

Leur métabolisme conduit à la formation de nombreux métabolites principalement par les réactions désulfuration, hydroxylation oxydative de la fraction .La métabolisme du triazole n'est pas influencé par niveaux de doses administrées, le mode d'administration et le sexe.

Il débute par des réactions d'oxydation de la fraction phényle seulement suivies de glucuroconjugaison et méthylation des produits d'oxydation (INRS ,2010).

D/ Elimination :

Le triazole est éliminé par métabolisation hépatique ; moins de 2% de la dose étant excrétée sous forme inchangée dans les urines. Après administration d'une dose radio-marquée de voriconazole, environ 80% de la radioactivité est retrouvée dans l'urine en cas d'administrations intraveineuse répétées, et environ 83 % en cas orales répétées.

La plus grand partie (>94 %) de la radioactivité totale est excrétée dans les premières 96 heures suivant l'administration, qu'elle soit orale ou intraveineuse (**Lannelongue,2010**)

VII. L'effet toxique du triazoles :***VII. 1 Effet sur le système nerveux :***

Certain travaux montrent que l'exposition aux triazoles, en général provoque une neurotoxicité, à la fois centrale et périphérique et des lésions neurologique chez le rat (**EPA, 2006**), ainsi une augmentation de la sécrétion des facteurs qui sont connus pour affecter l'apprentissage et la mémoire spatiale (**Lathe, 2001**).

Cette exposition a été associée à une diminution du rendement dans la tâche d'apprentissage. Ce déficit d'apprentissage est bien corrélé avec les résultats. Les auteurs classés à juste titre ce fongicide triazole comme une substance neurotoxique potentielle ciblant spécifiquement l'hippocampe (**Moser et al, 2001**). Certain auteur observé, une baisse de poids du cerveau, des lésions cérébrales, convulsions, une dégénérescence des nerfs périphériques (**ANSES, 2011**).

VII. 2 Effets hépatiques:

L'exposition aux triazoles montre, des effets sur le foie, à des degrés divers, certains dérivés peuvent agir comme des ligands pour les récepteurs nucléaires hétérodimériser avec d'autres récepteurs nucléaires (**EFSA, 2009**), l'hépatotoxicité se manifeste d'abord par une augmentation du poids et une hypertrophie hépatocellulaire centrolobulaire et de la cytotoxicité. Ce dernier effet est transitoire probablement en raison d'une adaptation métabolique du foie. D'autres dérivés produits une élévation de la phosphatase alcaline sérique et l'activité hépatique des transaminases (**IPCS Inchem, 1985**). Un grand nombre de travaux ont montrés une inhibition régulatrice des gènes de biosynthèse du cholestérol, ce qui correspond à une diminution du cholestérol sérique (**Goetz et al., 2007**).

D'autres études ont notés une accentuation de l'aspect lobulaire, foyers éosinophiles dans les hépatocytes, foyers sous-capsulaires pâles ou foncés, ainsi que modifications des canaux biliaires et des sinusoides et une modification du métabolisme lipidique suite a une exposition chronique (**Chen et al. 2008**).

VII. 3 Effets sur le développement :

Dans les études à court terme, les effets sur les os sont légèrement apparents chez le rat. Par contre, l'exposition à long terme à montrée les effets suivants : incidence accrue d'incisives pâles et blanchies, hypertrophie osseuse et épaissement des os du crâne, une dépression dorsale ainsi qu'une dilatation des ventricules du cerveau attribuable à la croissance excessive des os du crâne (**PRD, 2012**). Les études dans la période prénatale chez les rats exposés au dérivé de triazole révèlent divers effets (côtes surnuméraires, urétérohydrose et hydronéphrose). Chez les descendants, ils ont constatés une incidence accrue de taille du fœtus plus une diminution de la prise pondérale et la consommation alimentaire, ainsi qu'une augmentation de la consommation d'eau (**PRD, 2012**). Sur le plan du développement chez le rat, il a été noté que 1, 2,4- triazole induit seulement un retard développement mental (**Menegola et al., 2005**).

Chapitre 02:

Statut oxydatif

I. Définition:

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défenses antioxydants et la production d'ERO. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents prooxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro- oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets, herbicides, ozone, amiante, métaux toxiques) (Favier, 1997).

(Figure 03)

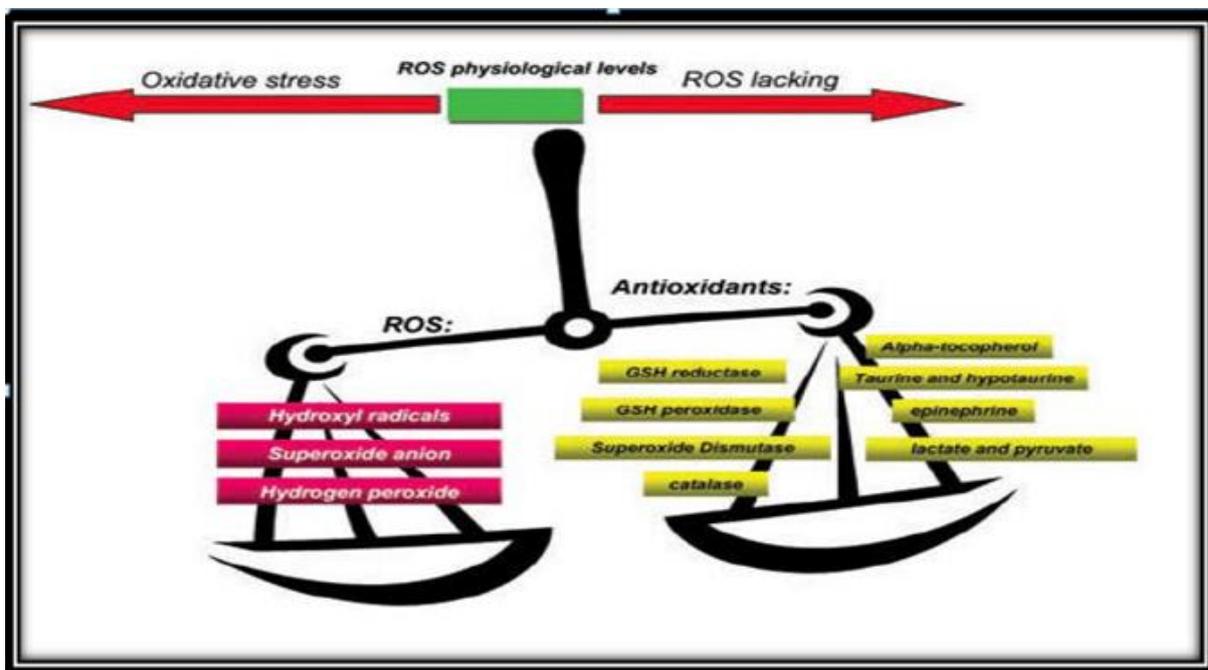


Figure 03 : balance entre les prooxydants (ERO) et les antioxydants (Fontaine, 2007)

II- Origine du stress oxydant:

Les RL sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à doses raisonnables. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de RL, un état de « stress oxydant » est signalé (Favier A., 2003).

III. Les radicaux libres (RL) :

III. 1 Définition :

Les RL sont des espèces chimiques indépendantes (Kehrer, 1993), atome, molécules ou leurs fragments (Durackova, 2008) possédant un ou plusieurs électrons célibataires (Kehrer J.P., 1993 ; Delattre J., 2005; Durackova Z., 2008). En toxicologie, les RL sont ceux qui existent dans un état libre et capables d'interagir avec différents composés de tissus (Kehrer, 1993).

L'existence des RL primaires qui dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron, et d'autres radicaux secondaires formés par la réaction des radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule, ainsi que des espèces non radicalaires dérivées de l'oxygène et douées d'une réactivité semblable impose la notion des espèces réactives de l'oxygène **ROS** pour désigner l'ensemble des entités contenant un ou plus d'atomes d'oxygène qui leur confère un critère défini d'être chimiquement réactif (Baskin et Salem, 1994). (Figure 04)

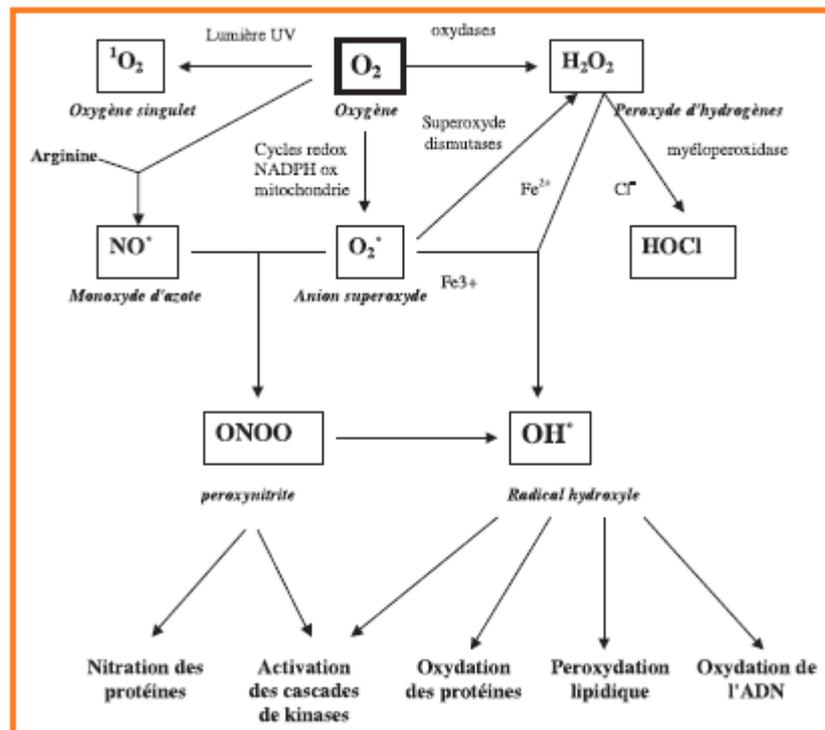


Figure 04 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie. (Favier A., 2003)

III. 2 Les radicaux libres dans les systèmes biologiques :

Dans les systèmes biologiques, les produits de la réduction à un, deux et trois électrons sont respectivement : Le radical superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle.

Ces trois ROS semblent participer à de nombreuses réactions essentielles pour les organismes aérobies (Kehrer, 1993). Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer trois groupes : (Favier A., 2003) .

**Les radicaux primaires*, qui constituent un ensemble restreint de composés radicalaires et dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ et le radical hydroxyle OH^{\bullet} , ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO^{\bullet} . Ils jouent un rôle particulier en physiologie (Darley-USmar et al., 1995).

**Les radicaux secondaires*, se forment par réaction des radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule.

* *D'autres espèces dérivées de l'oxygène*, dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde ($ONOOH$), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de certains radicaux (Delattre et al 2005). Les principaux ROS rencontrés en biologie sont montrés dans le (Tableau 02)

Tableau 02: nature des différentes espèces radicalaires impliquées dans le stress oxydant (Delattre J.,2005)

<i>Radicaux libres primaires</i>		<i>Dérivés oxygénés non radicalaires</i>	
$O_2^{\bullet-}$	= Radical superoxyde.	1O_2	= Oxygène singulet
HO_2^{\bullet}	= Radicale perhydroxyle	H_2O_2	= Peroxyde d'hydrogène.
$^{\bullet}OH$	= Radical hydroxyle	$ONOOH$	= Nitroperoxyde
RO_2^{\bullet}	= Radical peroxyde	$ONOO^{\bullet}$	= Peroxynitrite
RO^{\bullet}	= Radical alkoxyde.		
NO^{\bullet}	= monoxyde d'azote		

III. 4 Classification des radicaux libres :

Il existe trois principales catégories de radicaux libres :

- Les espèces oxygénées actives (EOA) : comme par exemple le radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et le radical hydroxyle (OH^{\bullet}). Les EOA incluent des radicaux libres et des composés réactifs oxydants non radicalaires (sans électrons libres dans leur couche externe) comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'acide hypochloreux ($HOCl$), et l'ozone (O_3).
- Les espèces azotées actives (EAA) : comme par exemple l'ion peroxydinitrite ($ONOO^{\bullet}$), le dioxyde d'azote (N_2O^{\bullet}), le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}).
- Les espèces soufrées actives (ESA) : comme le radical thiyl (RS^{\bullet}) (Giles et al, 2002).

Les principaux types et effets des radicaux libres sont présentés dans le **tableau 03**.

Tableau 03: principaux types et effets des espèces oxydantes

Radicaux libres	Abréviations	Effets
<u>Espèces oxygénées actives</u> Radical superoxyde Peroxyde d'hydrogène Radical hydroxyle Ozone Oxygène singulet	EOA $O_2^{\bullet-}$ H_2O_2 OH^{\bullet} O_3 1O_2	Oxydation des lipides, des protéines et de l'ADN
<u>Espèces azotées actives</u> Oxyde Nitrique ou Monoxyde d'Azote Dioxyde d'azote Peroxydinitrite	EAA NO^{\bullet} NO_2^{\bullet} $ONOO^{\bullet}$	Oxydation des lipides, des protéines et de l'ADN
<u>Espèces Soufrées Actives</u> Radical thiyl	ESA RS^{\bullet}	Oxydation protéines Oxydation ADN Production EOA

VI. Mécanismes antioxydants

VI.1 Antioxydants enzymatiques

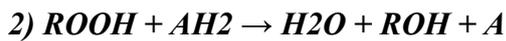
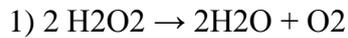
VI. 1.1 Les catalases(CAT) :

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus mais sont particulièrement abondantes dans le foie et les globules rouges. Parmi les enzymes connus c'est un des plus

efficaces. Ce sont des enzymes tétramériques, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH, avec une masse moléculaire de 240 kDa.

Elles catabolisent les peroxydes d'hydrogènes en molécules d'eau pour prévenir la formation de radicaux hydroxyles (**Matés et al.,1999**).

La réaction se fait en deux étapes:



La catalase est composée de 4 sous-unités protéiques, chacune contenant un groupement héminique avec Fe^{3+} lié au site actif. Chaque molécule a habituellement une molécule de NADPH, H^+ qui lui est liée, la protégeant ainsi d'une éventuelle inactivation par le peroxyde d'hydrogène. La dissociation des sous-unités résulte en une perte de l'activité catalase (**Bonnefont-Rousselot et al., 2003**).

VI. 1.2 Glutathion peroxydase :

Les glutathion peroxydases (GSH-Px) utilisent le glutathion comme substrat pour catalyser la réduction du peroxyde d'hydrogène. Cependant, ces peroxydases sont également capable de réduire de peroxyde membranaires issus de l'oxydation des acides gras et du cholestérol, selon le schéma réactionnel suivant :



VI.2 Antioxydants non enzymatiques

VI.2.1 Le glutathion réduit (GSH) :

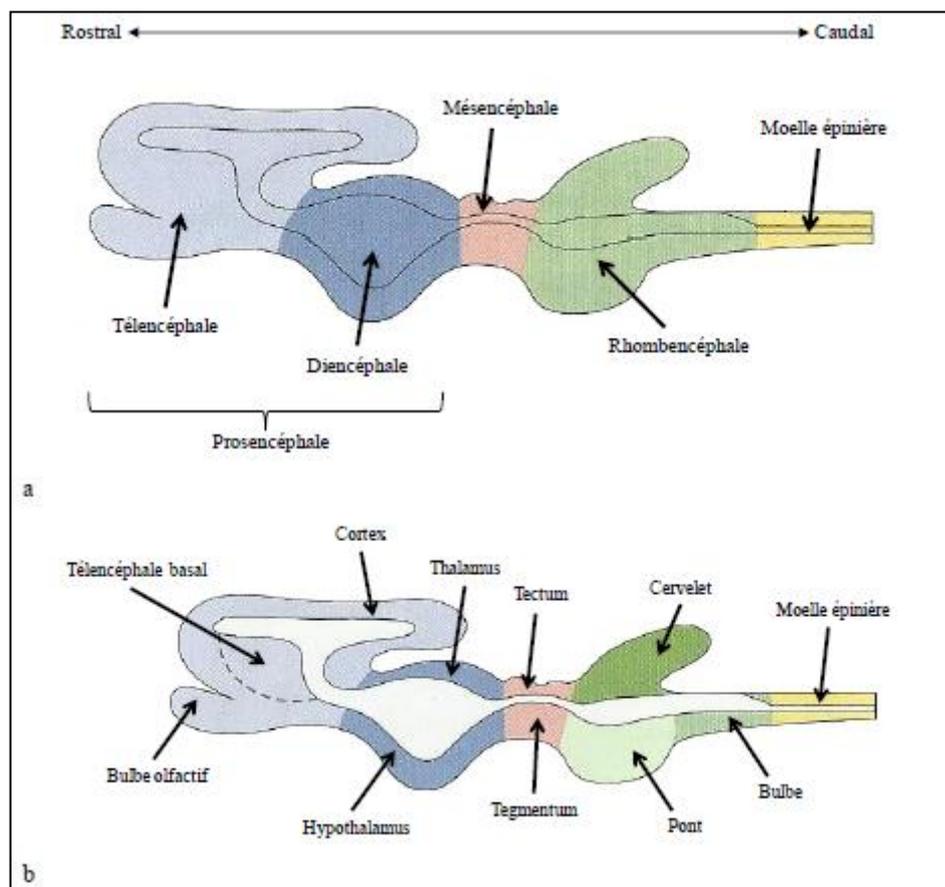
Elle est un tripeptide (L-glutamyl-L-cystéinylglycine) avec de multiples fonctions dans les organismes vivants. C'est un thiol non protéique majeur dans les organismes vivants qui joue un rôle crucial dans la coordination des mécanismes de défenses antioxydants naturelles. Il agit comme un antioxydant, soit directement en interagissant avec les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (ROS et RNS) et les électrophiles ou en agissant comme un cofacteur de plusieurs enzymes (**Lushchak, 2011**).

Chapitre 03 :

Cerveau

I. Développement et organisation du système nerveux central :

Le système nerveux dérive de l'une des trois couches de cellules présentes initialement chez l'embryon, l'ectoderme, plus particulièrement au niveau de la plaque neurale. Le sillon neural se forme dans la plaque neurale, et la parcourt de la partie la plus rostrale vers la partie la plus caudale. Les parois de ce sillon forment la gouttière neurale, qui en se développant va former le tube neural. Ce processus de formation du tube neural à partir de la plaque neurale s'appelle la neurulation, et a lieu 22 jours après la conception chez l'embryon humain. Après la neurulation, trois vésicules se différencient à l'extrémité rostrale du tube neural : le **proscéphale** (ou **cerveau antérieur**), le **mésencéphale** (ou **cerveau médian**), et le **rhombencéphale** (ou **cerveau postérieur**). Chacune de ses vésicules va subir différentes étapes de développement (Guillemette Crepeaux.2012) (Figure 05)



- Différenciation du **prosencephale** : les vésicules télencéphaliques sont à l'origine du télencéphale, qui comprend les deux hémisphères cérébraux. Deux territoires distincts sont ensuite formés au niveau du télencéphale : le cortex cérébral et le télencéphale basal. Les bulbes olfactifs proviennent du bourgeonnement de nouvelles vésicules télencéphaliques. Les axones des neurones du télencéphale constituent progressivement le corps calleux, la substance blanche corticale et la capsule interne. Des structures comme les ganglions de la base ou l'amygdale font partie du télencéphale. De même, le diencephale se différencie en deux structures : le thalamus et l'hypothalamus.

Le cerveau antérieur représente entre autre le siège de la perception, de la conscience, de la cognition, du mouvement volontaire. (Guillemette CREPEAUX,2012)

- Différenciation du **mésencéphale** : Il est impliqué notamment dans les systèmes sensoriels et le contrôle du mouvement. De plus, cette région contribue au passage de faisceaux de fibres très importants, reliant le cortex cérébral et la moelle épinière. Différenciation du **rhombencéphale**
- Différenciation du **rhombencéphale** : le cerveau postérieur se différencie en trois structures principales, le cervelet, le pont, et le bulbe rachidien. Le cerveau postérieur constitue, comme le cerveau médian, une voie importante de l'information entre le cerveau antérieur et la moelle épinière. Les neurones du cerveau postérieur contribuent au traitement de l'information sensorielle, au contrôle du mouvement volontaire et à la régulation de l'activité du système nerveux autonome. (Guillemette CREPEAUX,2012)

II. Anatomie de cerveau:

II. 1. *Structure externe*

II.1 .1 *L'encéphale de l'homme:*

L'encéphale est constitué de trois parties majeurs reliées entre elles par des fibres nerveuses. Ces parties sont le prosencéphale, le cervelet et le tronc cérébral. (**Michaël Lamy,2011**)

Le cerveau est par ailleurs usuellement séparé en quatre lobes principaux : frontal (à l'avant du télencéphale), occipital (à l'arrière au dessus de cervelet), pariétal (dans la partie supérieure entre frontal et occipital) et temporal (dans les parties inférieures et latérales).(**Michaël Lamy,2011**) Le cerveau est la partie la plus importante en volume et en masse de l'encéphale. Le télencéphale est séparé en deux hémisphères. (**Michaël Lamy,2011**)

On distingue 4 grands lobes à la surface de chaque hémisphère: le lobe frontal, le lobe pariétal, le lobe occipital et le lobe temporal. (**LSC.2009**)

- **Le lobe frontal** Il est situé dans la partie antérieure (avant) des hémisphères cérébraux, c'est-à-dire juste derrière le front. Il abrite les centres chargés du contrôle musculaire, de la pensée, de la mémoire, du raisonnement et des associations. Selon certains chercheurs il serait également le siège de la personnalité.
- **Le lobe pariétal** Il est situé dans la partie moyenne du cerveau. Il reçoit les informations relatives au toucher et à l'orientation spatiale.
- **Le lobe occipital** Il est situé à l'arrière des hémisphères, près de l'os occipital du crâne. Il abrite les centres responsables de la vision.
- **Le lobe temporal** Il est situé sur le côté, près des tempes. Il abrite les centres de l'audition, du goût et de la mémoire. (**LSC.2009**) (**Figure 06**)

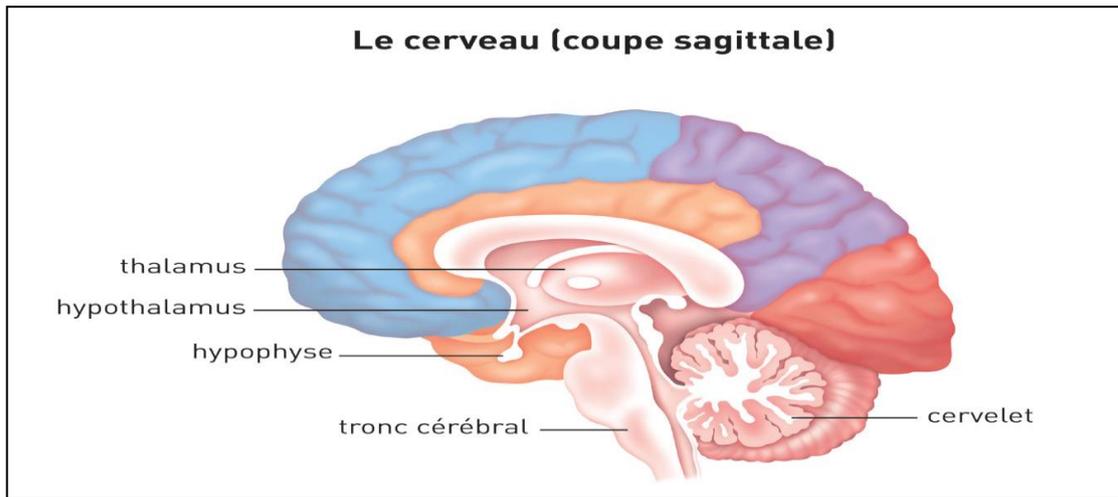


Figure06: coupe sagittale de cerveau (LNC,2010)

II. 2 Structure interne:

Le cerveau est constitué d'une matière blanche et d'une matière gris appelée cortex et du liquide céphalo-rachidien(LCR) (Kamel Aloui, 2012) (Figure 07)

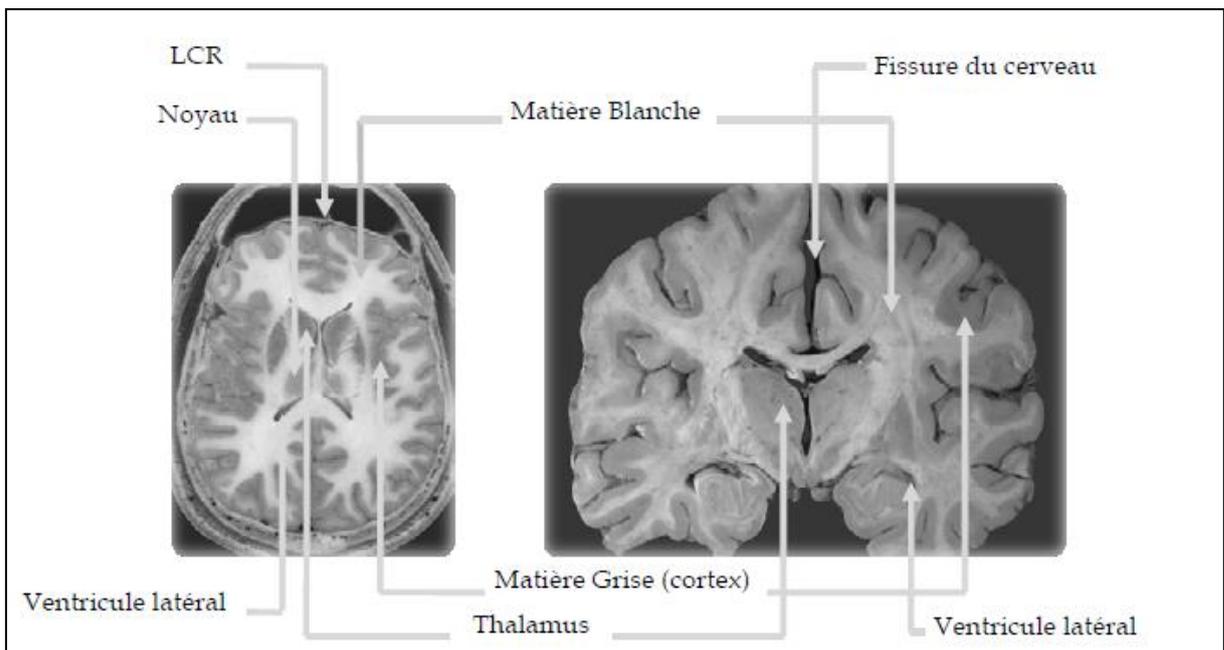


Figure 07: chemin d'un cerveau humain. (Kamel Aloui,2012) Vue frontale à gauche.

Vue coronale à droite.

Le matière gris ou cortex cérébral contient principalement les corps cellulaires des neurones qui lui donnent la couleur grisâtre.

Le matière blanche est composé entre le cortex, les noyaux gris centraux et les ventricule. Elle est composée d'un agglomérat d'axones qui établissent les connexions entre les corps cellulaires du cortex et d'autre partie du cerveau.(Kamel Aloui,2012)

III. Protection du Cerveau:

Le cerveau est l'organe central supervisant le système nerveux; il contrôle et coordonne la plupart des mouvements et les fonctions internes telles que le rythme cardiaque, la pression artérielle ou la température du corps et il gère la production de toutes les hormones (LSC.2009) le Cerveau bénéficie de trois systèmes de protections :

1. Les **os du crâne** forment une première coque solide autour du cerveau. Ils le protègent des chocs.
2. Trois membranes, les **méninges**, enveloppent le cerveau et la moelle épinière. Elles les protègent des blessures et des infections.
3. À l'intérieur du crâne et le long de la colonne vertébrale, un liquide joue le rôle d'isolant et d'amortisseur contre les chocs. Ce liquide est le **liquide céphalo-rachidien (LCR)**, appelé aussi **liquide cérébro-spinal (LCS)**. Il est produit à l'intérieur du cerveau, dans des cavités appelées ventricules. Renouvelé en permanence, ce liquide garde un volume stable, ce qui assure une pression constante à l'intérieur du crâne.(LNC, 2010) (Figure 07)

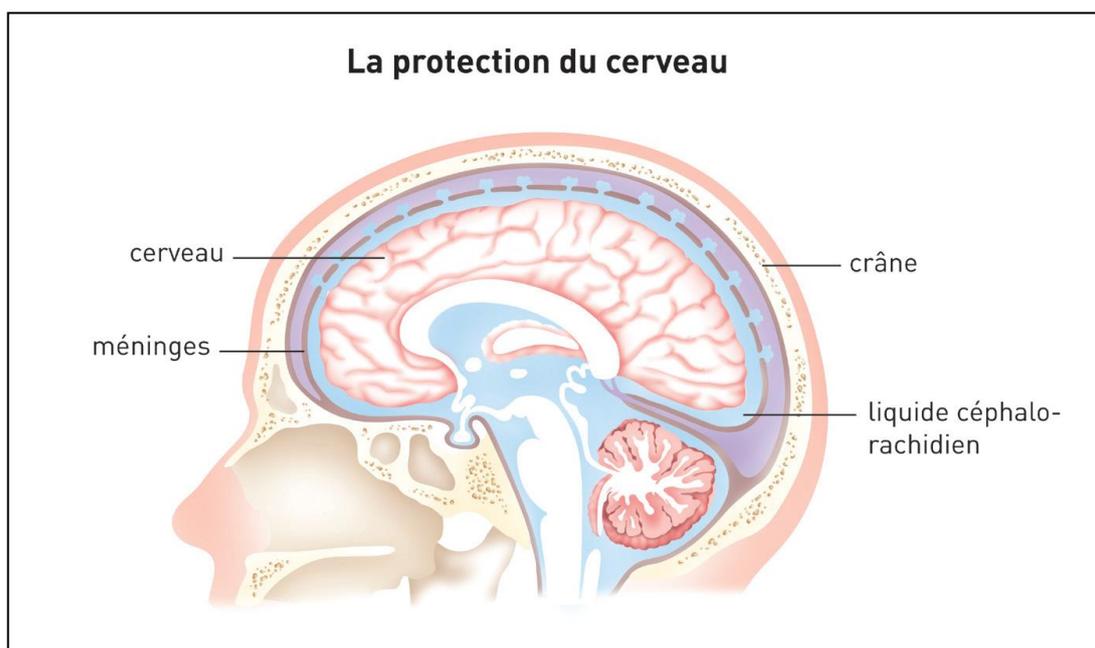


Figure08: Les systèmes de protection de cerveau.(LNC, 2010)

IV L'encéphale du rat:

L'encéphale de rat présente une organisation typique des mammifères, telle que celle décrite précédemment chez l'homme même si leurs encéphales respectifs présentent naturellement des échelles assez différentes.

L'encéphale de rat est lui aussi organisé en un cerveau (prosencéphale), un cervelet et un tronc cérébral. Le cerveau est composé d'un télencéphale avec un cortex cérébral assez volumineux, et un diencéphale incluant thalamus et hypothalamus entre autres. Les deux hémisphères du cerveau sont liés par le corps calleux, et des ventricules sont présents. Les organisations structurelles du cerveau, du cervelet et du tronc cérébral sont globalement identiques à leur homologues chez l'homme. **(Michaël Lamy, 2011)**

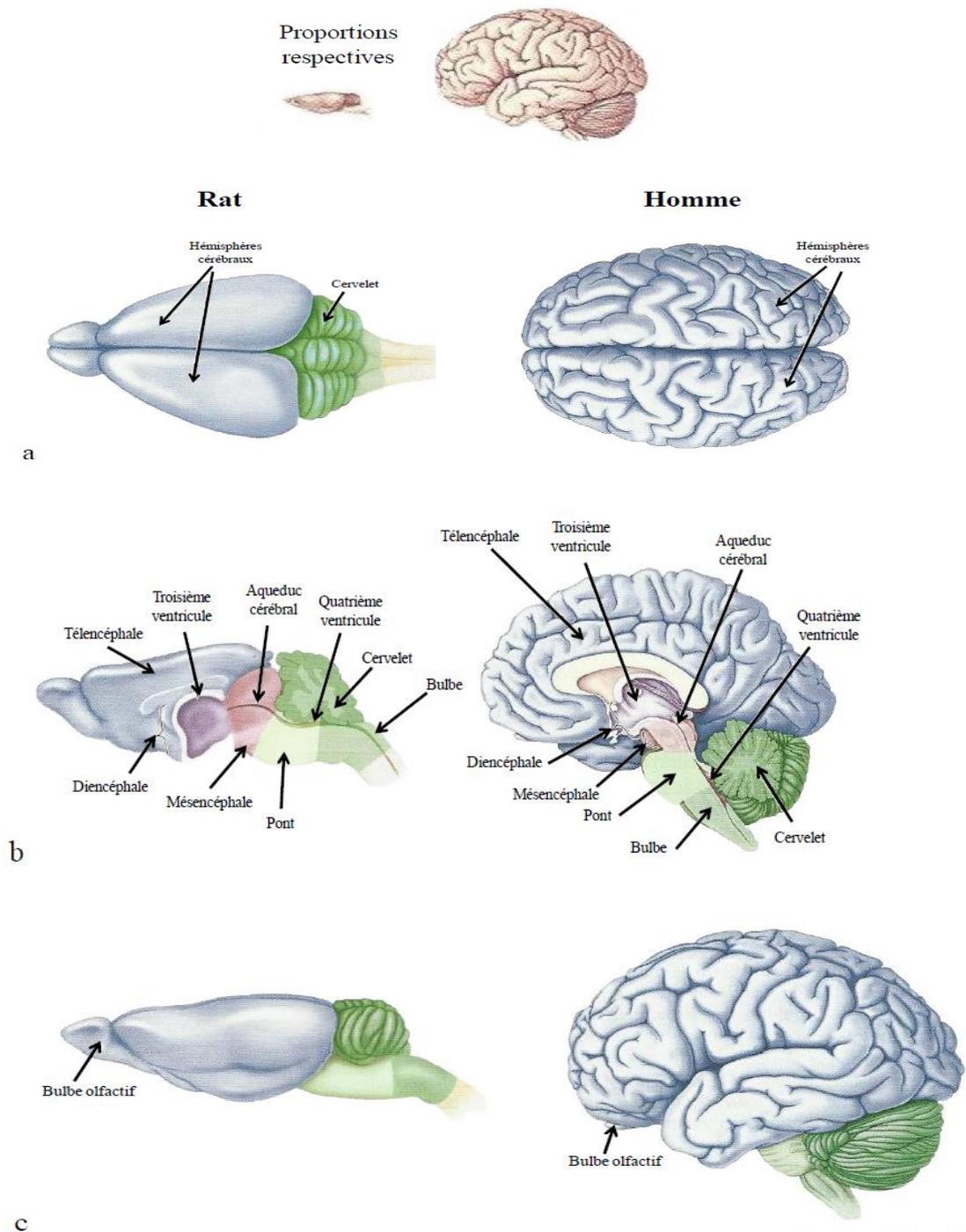


Figure 09 : Comparaison du cerveau du rat et du cerveau humain (Bear et al., 2010)

(a) Vue dorsale

(b) Vue médiosagittale

(c) Vue latérale (les cerveaux ne sont pas représentés à la même échelle).

V. Anomalie de cerveau:

L'accident vasculaire cérébral Jadis appelé apoplexie, et parfois nommé aujourd'hui attaque cérébrale, l'accident vasculaire cérébral (AVC) désigne l'obstruction ou la rupture d'un vaisseau transportant le sang dans le cerveau, dont il résulte une privation d'oxygène. L'AVC est une urgence médicale : il peut être fatal et, dans la moitié des cas, il entraîne des séquelles d'autant plus importantes que le traitement aura été retardé. **(FCR.2017)**

La dégénérescence fronto-temporale La dégénérescence fronto-temporale (DFT) est une maladie neurodégénérative, apparentée à la maladie d'Alzheimer. Contrairement à cette dernière qui affecte la quasi-totalité du cerveau, la DFT touche principalement le lobe frontal et temporal situés dans les parties antérieures et latérales du cerveau. **(FCR.2017)**

La maladie d'Alzheimer Décrite en 1906 par le médecin, psychiatre et neurologue allemand Aloïs Alzheimer, la maladie portant désormais son nom est une pathologie neurodégénérative.

La maladie de Parkinson Décrite pour la première fois en 1817 par un médecin anglais qui lui donna son nom, la maladie de Parkinson est une affection dégénérative du système nerveux central. Les zones spécifiquement atteintes sont les neurones producteurs de dopamine (système dopaminergique). **(FCR.2017)**

La paralysie cérébrale La paralysie cérébrale est un terme d'utilisation internationale, dont les limites et les définitions ont subi de nombreuses variations au gré des écoles de pensées, des concepts et de l'évolution des connaissances concernant le développement cérébral.

Le syndrome cérébelleux Le syndrome cérébelleux est un trouble dont l'origine est liée à une lésion du cervelet et/ou des voies nerveuses en relation avec le cervelet. **(FCR.2017)**

Les maladies psychiatriques et les troubles du comportement Les affections psychiques vont de la simple anxiété à la dépression réactionnelle jusqu'aux psychoses les plus graves, dont la schizophrénie, la dépression bipolaire, l'autisme, etc... c'est dire que tout dysfonctionnement ou lésion du système nerveux retentit instantanément sur l'individu, en raison des handicaps qui en résultent, et de sa capacité à s'intégrer. **(FCR.2017)**

Matériels et Méthodes

I. L'objectif :

Notre travail a pour objectif d'évaluer le statut oxydatif cérébral et neurocomportemental suite à une exposition aiguë et subchronique au 5-phényl 1,2,4 triazole 3-thiol (5PTT) chez des jeunes rats wistar

II. Matériel biologique utilisé :

II.1 Animaux d'expérimentations :

Les expériences sont réalisées sur des jeunes rats, albinos, de la souche Wistar, pesant de 60 à 65 grammes. Disposés dans une animalerie ventilée, à une température de $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Un éclairage artificiel établit un cycle jour/nuit (jour entre 7 et 19h). Les animaux sont hébergés dans des cages en plastique spécialisées comportant des mangeoires et des biberons, Ils sont groupés dans deux lots. Les expérimentations ont eu lieu dans les laboratoires de biologie de la faculté des sciences de l'université Dr. Moulay Tahar, Saida.

(Figure 10)



Figure 10: les rats d'expérimentation

II.2 la synthèse de 5-phényl 1,2,4 triazole. 3-thiol :

Les hétérocycles 1, 2,4-triazoles 3-thiol ont été synthétisés au laboratoire PFE, par l'intermédiaire hydrazide de l'acide benzoïque. L'acide benzoïque est subit une estérification par le méthanol absolu en présence d'une quantité catalytique de l'acide H_2SO_4 concentré. Le benzoate de méthyle (Almasiradet al., 2004) obtenu est ensuite traité avec de l'hydrazine hydraté à dans l'éthanol absolu comme solvant ce qui a abouti à la formation de benzohydrazide correspondant (Karthikeyan, 2009) (figure 11).

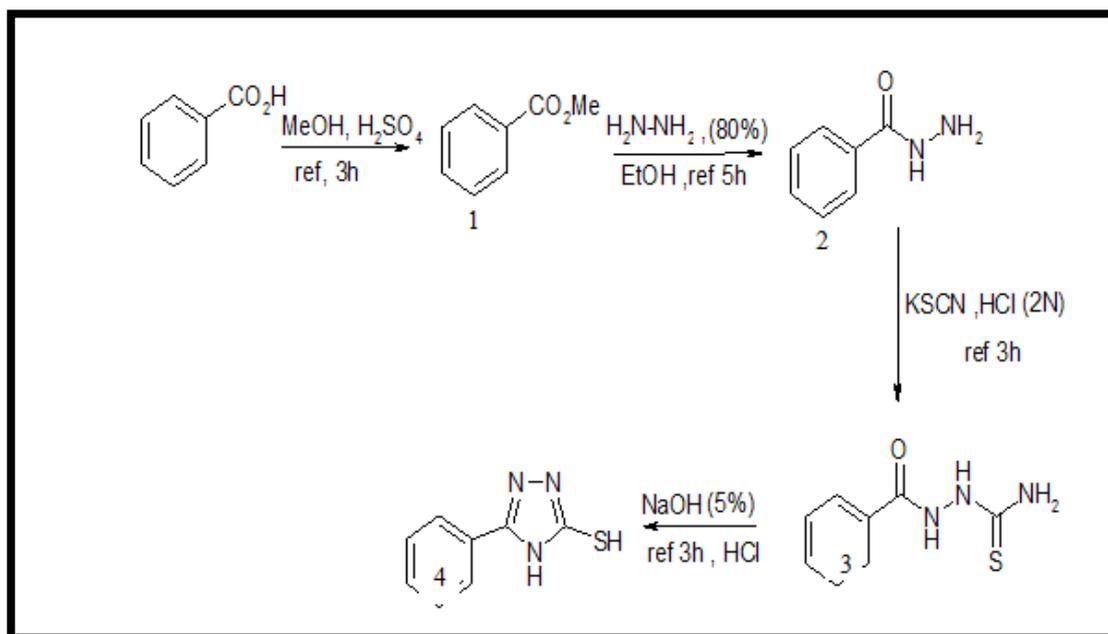


Figure 11: la synthèse de 5-phényl 1,2,4 triazole. 3-thiol.

L'acylthiosemicarbazide (Rostom et al; 2003) est préparé par addition nucléophile de benzohydrazide (Karthikeyan ;2009) sur le thiocyanate de potassium en milieu acide chlorhydrique pour donner l'acylthiosemicarbazides avec un bon rendement. La Cyclisation intramoléculaire de cette intermédiaires acylthiosemicarbazides (Rostomet al.; 2003). dans une solution d'hydroxyde de sodium NaOH (4%) sous reflux conduit a la formation de 5-phenyl 1, 2,4-triazoles 3-thiols (Agrawalet al.; 2011).(Figure 12)

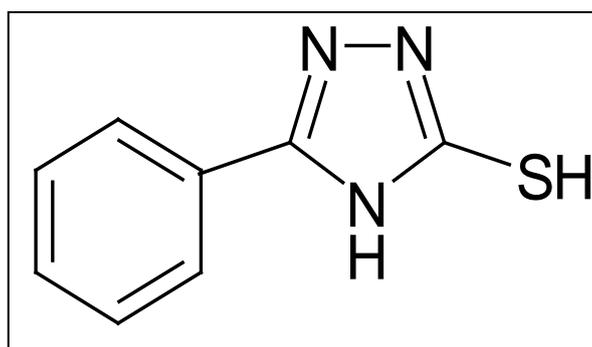


Figure 12:la molécule du 5-phényl 1,2,4-triazole 3-thiol (5-PTT)

II. 3 Préparation de la solution d'injection :

La solution d'injection pour notre expérimentation a été préparé par la solubilisation de produit solide le 5-phényl 1,2,4 triazole 3-thiol dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) Sous forme liquide utilisable pour les injections.(**Figure 13**)



Figure 13: la solution d'injection

III. Protocole expérimental :

III.1 Le traitement des rats :

Dans notre expérimentation nous avons procédé au traitement des jeunes rats suivant deux protocoles :

Partie I : Une exposition subchronique au 5 PTT a une dose de 10mg/kg (**Palaska et Al ;2002**) durant une période de 30 jours dans le but d'évaluer le statut neurocomportemental

Partie II : Une exposition aigue de 2 jours d'une dose de 200mg/kg (**Gannaire F et Micillino J-C ;2005**) afin d'évaluer le statut oxydatif au niveau du cervical

Partie I : exposition subchronique

I.1 Répartition des groupes :

Après sevrage, les rats sont divisés en deux lots :

- **Lot témoin « T » :** jeunes rats injectés par voie intra-péritonéale (IP) avec l'eau physiologique pendant 30 jours (n=6 rats).
- **Lot expérimental « 5 PTT » :** jeunes rats traités par 5 PTT avec une dose de (10mg/kg) et cela par une injection intra-péritonéale(IP) pendant 30 jours (n=6 rats).

I.2 Evaluation du poids corporel:

L'évaluation du poids corporel est suivie périodiquement chaque jour tout au long de l'expérimentation (30 jour). (**Figure 14**)



Figure 14: mesure de poids des rats

I.3 Etude du comportement de l'animal :

I.3.1 Test l'open Field :

L'open Field utilisé était une large boîte rectangulaire ouverte (90 cm de long, 70 cm de large, et 60 cm de haut), à fond noir, et fortement éclairée du dessus (500 lux). Des lignes blanches au sol délimitaient des carreaux (10 x 10 cm) (**DAUGE *et al.* (1989)**).

L'open Field constitue un environnement stressant pour le rat. Il s'agit en effet d'un animal nocturne, qui préfère les espaces confinés, clos et peu éclairés, et est effrayé par les grands espaces, où il va peu au centre et longe les murs.

Chaque rat était initialement placé dans un des quatre coins de l'open Field, la tête orientée vers le coin. Son comportement était observé pendant 6 minutes.

Six paramètres étaient mesurés par l'expérimentateur :

- le temps de latence (exprimé en secondes), qui correspond au temps mis par le rat pour sortir des quatre carreaux formant le coin,
- le nombre total de carreaux traversés par le rat pendant la durée du test (6 min), qui reflète l'activité locomotrice,
- le nombre de visites dans les 15 carreaux du centre,

- le nombre total de redressements (animal positionné sur ses deux pattes postérieures, droit, en équilibre dans le vide ou contre une paroi),
- le nombre total de toilettages,
- le nombre total de défécations.

Ainsi, ce test évalue les capacités exploratoires du rat dans un contexte stressant.

Le nombre de carreaux traversés et le nombre de redressements reflètent son activité exploratoire et son état émotionnel. Les autres paramètres sont plutôt des indices de son état émotionnel. **(Figure 15)**



Figure 15: test open Field

1.3.2 Labyrinthe de Barnes

Le labyrinthe de Barnes est constitué d'une plateforme circulaire de 1m de diamètre de couleur noire, à une hauteur de 70cm. Douze trous de 4 cm de diamètre sont répartis de façon équidistante à la périphérie de la plateforme. Un tuyau souple est utilisé pour connecter l'un des trous à la cage de la souris qui est déposée en contrebas de la plateforme. Le labyrinthe est éclairé par une lumière de 400 lux au centre de la plateforme. Les souris sont entraînées à retrouver le trou cible connecté à leur cage alors que les onze autres trous sont bouchés. Pour chaque souris, la cible reste toujours à un même emplacement dans le référentiel de la pièce. La souris peut se guider grâce à des indices visuels, olfactifs et sonores fixes, tels que des posters au mur, un évier, le son d'une radio dans la pièce, les autres souris et l'expérimentateur lui même.

Les souris sont déposées au centre de la plateforme et explorent librement la plateforme jusqu'à trouver la cible dans laquelle elles réfugient généralement pour rejoindre leur cage. Si au bout de trois minutes une souris n'a pas trouvé la cible ou n'a pas rejoint sa cage, elle est dirigée délicatement vers la cible par l'expérimentateur. Après chaque essai, la plateforme est rincée avec un gant mouillé d'eau et est tournée pour limiter les indices olfactifs à l'intérieur du labyrinthe. Chaque souris réalise trois essais par jours pendant cinq jours. Le sixième jour, les souris sont soumises à une première épreuve: la souris est déposée au centre de la plateforme de façon identique aux essais, mais les 12 trous sont bouchés. La souris est laissée en exploration sur la plateforme pendant deux minutes.

L'épreuve est suivie de trois essais le même jour. Après ce dernier apprentissage pour mesurer la mémoire à long terme. Pour chaque essai, le temps avant de trouver la cible et le nombre d'erreur sont mesurés. Pour l'épreuve, un indice d'exploration est calculé à partir du nombre de visites à la cible divisé par le nombre totale de visites (**Barne, 1979**) (**Figure 16**)



Figure 16: test labyrinthe de Barnes

1.3.3 Test obscurité/lumière

Le comportement d'exploration des souris lors du test obscurité/lumière a été étudié pendant la période de jour de l'animalerie, en fin d'après midi. L'appareil est constitué de deux compartiments de taille identique ($18,5 \times 18,5 \times 15 \text{ cm}^3$) l'un opaque et l'autre transparent, séparé par un tunnel opaque ($5 \times 5,5 \times 5 \text{ cm}^3$). La luminosité dans le compartiment transparent est de 400 lux. Les souris sont déposées dans le compartiment obscur. La latence avant la première transition vers le compartiment lumineux, le nombre de transitions entre les deux compartiments et le temps passé dans chaque compartiment sont mesurés pendant 6 minutes. (Costall et al;1988) (Figure 17)



Figure 17: test drak and light

I.4 Sacrifices des rats

1.4.1 Sacrifices des rats et prélèvement des échantillons :

Les rats sont sacrifiés le matin après 12h de jeûne par décapitation. Le sang récupéré dans des tubes héparines pour les analyses biochimiques (glycémie et cortisol) et le poids de cerveau, des deux lots a été enregistré .

1.4.1.1 Prélèvement des organes :

Le crâne des animaux sacrifiés a été ouvert pour le prélèvement de cerveau, rincé avec une solution Na Cl, séché, pesé sur une balance de précision de sensibilité puis conservé homogénéisé pour l'étude du statut oxydatif. (**Figure 18**)

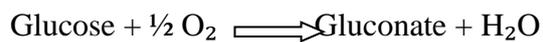


Figure 18 : prélèvement de cerveau

1.4.2 Dosage biochimique :

1.4.2.1 Dosage de glucose : (Bio Systems)

Le dosage du glucose est effectué sur le sérum après séparation du sang. Le glucose sanguin est estimé selon les réactions couplées suivantes :



Un complexe coloré est estimé par spectrophotomètre à une longueur d'onde $\lambda = 500 \text{ nm}$.

1.4.2.2 Dosage du cortisol

Technique : Electrochimiluminescence (ECLIA -Cobas - Roche)

Principe technique : Principe de compétition. Durée totale du cycle analytique: 18 minutes

1ère incubation: 20 μL d'échantillon sont incubés avec un anticorps anti-cortisol

spécifique biotinylé et un dérivé de cortisol marqué au ruthénium. Les sites de liaison encore disponibles de l'anticorps biotinylé sont occupés en partie par le cortisol endogène et en partie par l'haptène. Il se forme des immuncomplexes anti-cortisol en relation avec la concentration en cortisol contenue dans l'échantillon

2ième incubation: les microparticules tapissées de streptavidine sont ajoutées dans la cuvette réactionnelle. Le complexe immunitaire est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine- biotine.

Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de ProCell ou ProCell M. Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.

Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration. Celle-ci est générée, pour l'analyseur utilisé, par une calibration en 2 points et une courbe de référence mémorisée dans le code-barres du réactif.

Partie II: exposition aigue

Après sevrages les jeunes rats sont répartis en trois lots :

- **Lot témoin « T »** : composé de 6 rats, soumis à deux injections intra-péritonéale (1 injection /jour) par l'eau physiologique a une dose de 200 mg/kg de poids corporel.
- **Lot DMSO** : constitué de jeunes rats dont on injecte le DMSO comme témoin positif par voie intra- péritonéale pendant deux jours a une dose de 200 mg/kg de poids corporel (n=6 rats).
- **Lot expérimental « 5 PTT »** : jeunes rats traites deux jours par injections intra-péritonéale de 5-phenyl-1,2,4-triazole-3-thiol à une dose de 200 mg/kg de poids corporel (n=6 rats).

II .1 Sacrifices et prélèvements d'organes

Après les deux jours de traitement les trois groupes sont sacrifiés (par décapitation), après la dissection, le cerveau est prélevé, débarrassés de son tissu adipeux, rincé dans une solution de chlorure de sodium (Na Cl) à 0.9 %.

II.2 Dosage des paramètres du stress oxydant :

II.2.1 Préparation de l'homogénat :

Un gramme de cerveau des rats des différents groupes étudiés a été utilisé. Après broyage et homogénéisation du tissu dans le TBS (Tris 50 mM, NaCl 150m M, pH 7.4), on a procédé à une centrifugation de la suspension cellulaire (9000 tours/min, 4°C, 15 min), le surnageant obtenu est aliquoté dans des tubes eppendorfs puis conservés à (- 20°C) en attendant d'effectuer le dosage des paramètres du stress oxydatif.

II.2.2 Dosage des protéines :

Le dosage des protéines est déterminé selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu de Coomassie comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amines (-NH₂) des protéines pour former un complexe de couleur bleu (L'apparition de la couleur bleu reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines).

N.B: le Tris: 2 amino-2hydroxymethyl 1,3propanediol synonyme :Trizma (TM),Trisamine.

-Formule brute : C₄H₁₁NO₃

Pour cela, nous avons procédé aux étapes suivantes :

- Prélever 0.1 ml de l'homogénat.
- Ajouter 5 ml de réactif de Bradford.
- Agiter et laisser reposer 5 minutes.
- Lire à 595 nm les densités optiques contre le blanc.

La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (1mg/ml) préalablement réalisée dans les mêmes conditions.

II.2.3 Dosage du glutathion réduit (GSH) :

Le dosage du glutathion est réalisé selon la méthode d'Ellman (1959) modifié par Jollow et al. (1974). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique qui résulte de la réduction de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela on réalise une déprotéinisation afin de garder uniquement les groupements (-SH) spécifique du glutathion. (**Figure 19**)

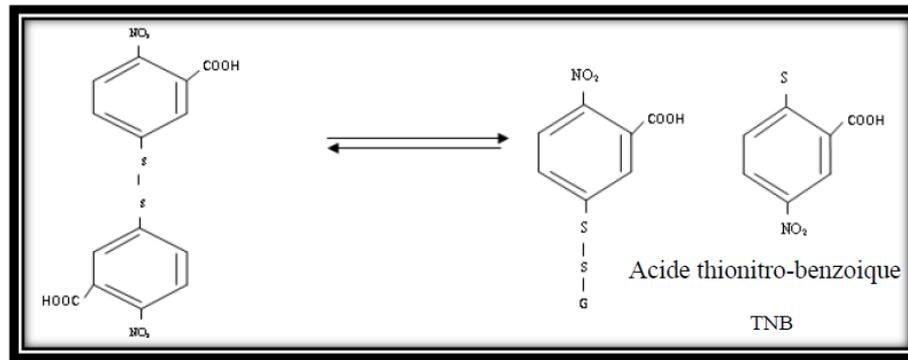


Figure 19: réaction d'Elman

La procédure expérimentale de dosage du glutathion réduit est la suivante

- ✓ Prélever 0.8 ml de l'homogénat ;
- ✓ Ajouter 0.2 ml de solution d'acide salicylique (0.25%) ;
- ✓ Agiter et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace ;
- ✓ Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min ;
- ✓ Prélever 0.5 ml du surnageant ;
- ✓ Ajouter 1 ml de tampon Tris, pH 9.6 ;
- ✓ Mélanger et ajouter 0.025 ml d'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01M.

Laisser pendant 5 min à une température ambiante et lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc réactif.

La concentration du glutathion réduit est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GSH (nmol GSH/mg de protéine)} = \frac{\text{D0} \times 1 \times 1.525}{13100 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg protéine}}$$

- D0 : Densité optique.
- 1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8 ml homogénat + 0.2 ml de l'acide salicylique).
- 1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau de surnageant (0.5 ml surnageant + 1 ml Tris + 0.025 ml DTNB).
- 13100 : Coefficient d'absorbance du groupement (-SH) à 412 nm.
- 0.8 : Volume de l'homogénat.

0.5 : Volume de surnageant.

II.2. 4 Dosage de l'activité du glutathion peroxydase (GSH-Px) :

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GSH-Px) a été mesurée par la méthode de Flohe and Gunzler (1984). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence du glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de GSH-Px selon la réaction suivante :



Pour cela, nous avons procédé aux étapes suivantes :

- Prélever 0.2 ml de l'homogénat (surnageant).
- Ajouter 0.4 ml de GSH (0.1 mM) ;
- Ajouter 0.2 ml de solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4).
- Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min.
- Ajouter 0.2 ml de H₂O₂ (1.3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 10 minutes.
- Ajouter 1 ml de TCA (1%) pour arrêter la réaction.
- Mettre le mélange dans un bain de glace pendant 30 minutes.
- Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /minutes.
- Prélever 0.48 ml de surnageant.
- Ajouter 2.2 ml de solution tampon TBS.
- Ajouter 0.32 ml de DTNB (1.0 mM).
- Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm.

La détermination de l'activité enzymatique de la GSH-Px se fait à l'aide de la formule suivante :

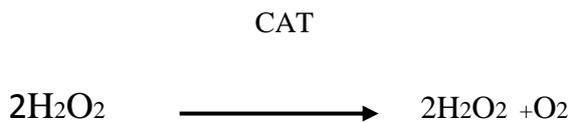
$$GSH-Px (\mu\text{mol GSH/mg protéine}) = \frac{(DO_{\text{échantillon}} \times DO_{\text{étalon}}) \times 0.04}{DO_{\text{étalon}}}$$

- DO échantillon: Densité optique de l'échantillon.

- DO étalon: Densité optique de l'étalon.
- 0.04: Concentration de substrat (GSH).

II.2.5 Dosage de l'activité enzymatique de la catalase(CAT) :

-La CAT est dosée selon la méthode d'Aebi(1984).La mesure de l'activité catalytique à 240nm est basée sur la variation de la densité optique consécutive à la dismutation d'H₂O₂ selon la réaction suivant :



Les absorbances sont lus après 15secondes de délai et durant 60secondes de mesure.

Réactifs	Zéro(µl)	Blanc(µl)	Essai(µl)
-Tampon phosphate (100mM)PH7.4	1000	800	780
-H ₂ O ₂ (500mM)	-	200	200
-Surnageant	-	-	20

-L'activité catalytique est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité CAT } (\mu \text{ moles d'H}_2\text{O}_2/\text{min/mg de protéine}) = \frac{\Delta\text{DO}}{\epsilon * I * X * Fd} \quad \text{Avec :}$$

-ΔDO : Variation de la densité optique par minutes.

-ε : Coefficient d'extension d'H₂O₂ (0.043mM⁻¹cm⁻¹).

-I : Largeur de la cuve.

-X : Quantité de protéines en mg/ml.

-Fd : Facteur de dilution pour le H₂O₂ dans la solution tampon (0.02).

Résultats et Interprétations

I. Résultat d'exposition subchronique:

I.1 La croissance pondérale et le poids de cerveau :

I.1.1 La croissance pondérale :

Nos résultats montrent une diminution significative du poids corporel et une baisse du gain de poids corporel chez le lot traité par le 5 PTT comparativement au lot témoin. (**Figure 20**)

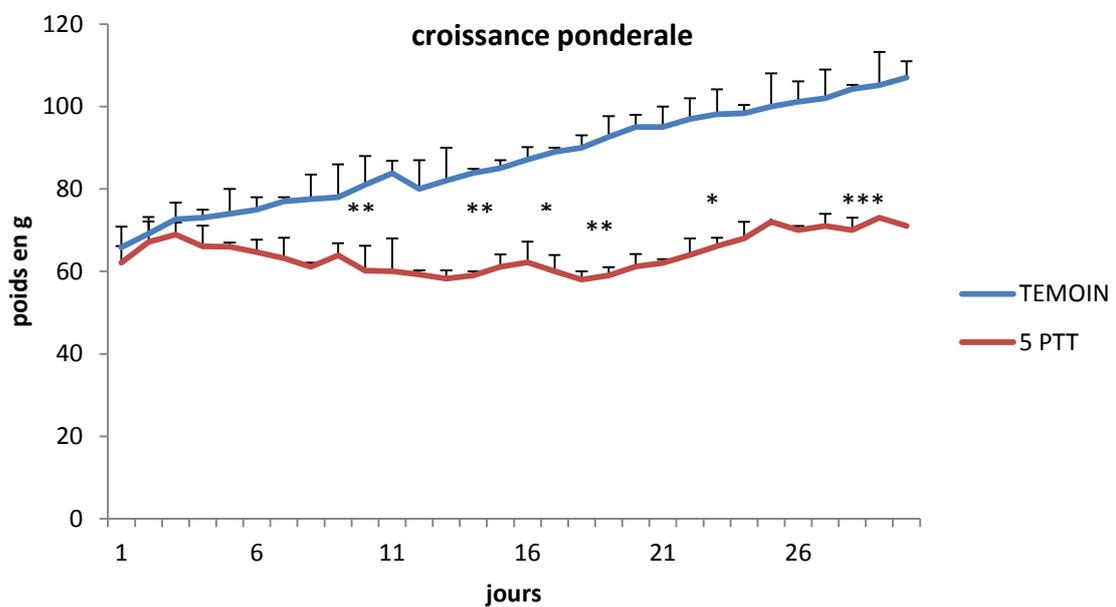


Figure 20 : L'évolution du poids corporel des rats pendant 30 jours d'expérimentation. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (* : $p < 0.05$; **: $p < 0.01$;*** : $p < 0,001$).

1.1.2 Le poids de cerveau :

Les données obtenues indiquent une diminution significative du poids cérébral des rats exposés au 5PTT par rapport à celui des rats témoins. (**Figure 21**)

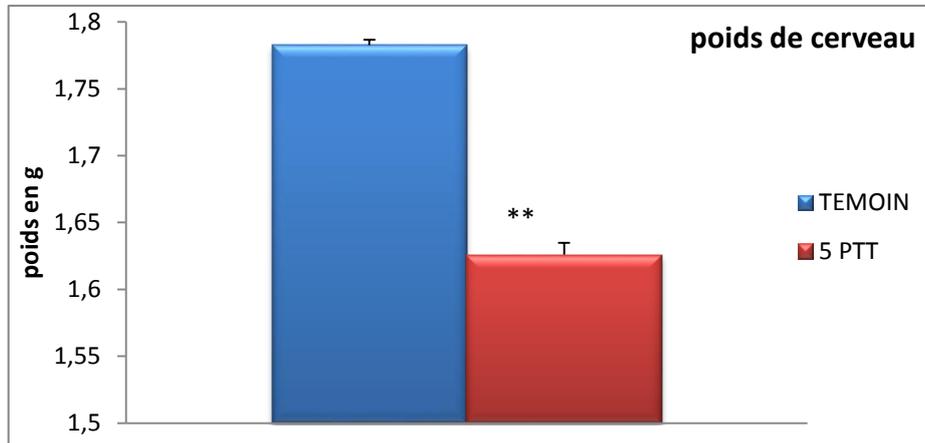


Figure 21: comparaison du poids du cerveau entre les rats traités par 5 PTT et les rats témoins. Les valeurs sont exprimées à la moyenne \pm SEM. (**: $p < 0.01$).

I.2 Les tests de comportement :

I.2.1 Test de l'open Field:

Les résultats obtenus montrent que l'administration par voie intra-péritonéale de 5PTT à une dose de 10mg/kg entraîne une diminution significative du nombre de carreaux traversés, le nombre de redressement et le nombre de visite au centre ($p < 0,001$; $p < 0,01$; $p < 0,05$) respectivement, par rapport aux rats témoins, on observe également une augmentation significative du temps de latence ($p < 0,05$) des rats traités par rapport au lot témoin. les résultats enregistré concernant le nombre de toilettage et le nombre de défécation ne présentent aucune différence significative. (Figure 23)

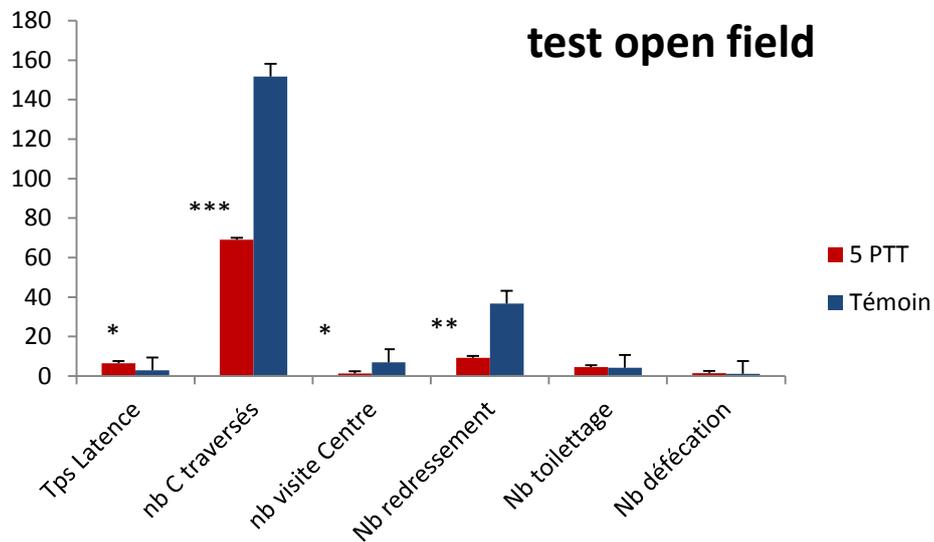
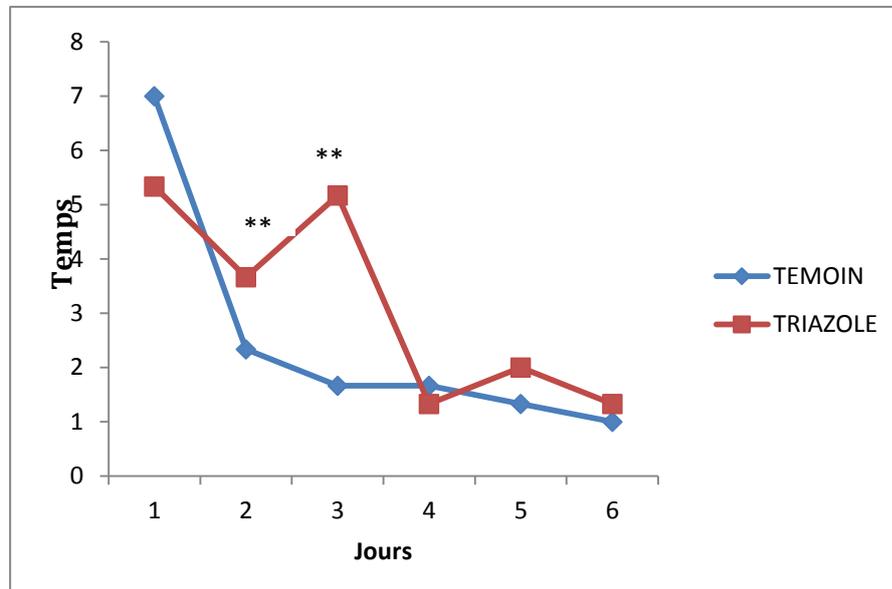


Figure 22 : Effet de l'exposition au 5 PTT sur l'activité locomotrice et comportement stéréotypé (Test open Field) comparés aux témoins. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (** * : $p < 0.001$; ** : $p < 0.01$; * : $p < 0.05$).

I.2.2 Le test de labyrinthe de Barnes :

Les plateformes des rats ont été testées dans labyrinthe de Barnes, qui évalue la mémoire spatiale. Le nombre d'erreur et le temps écoulé avant de trouver la cible (**Figures 22**)

A latence avant la cible



B Erreurs avant la cible

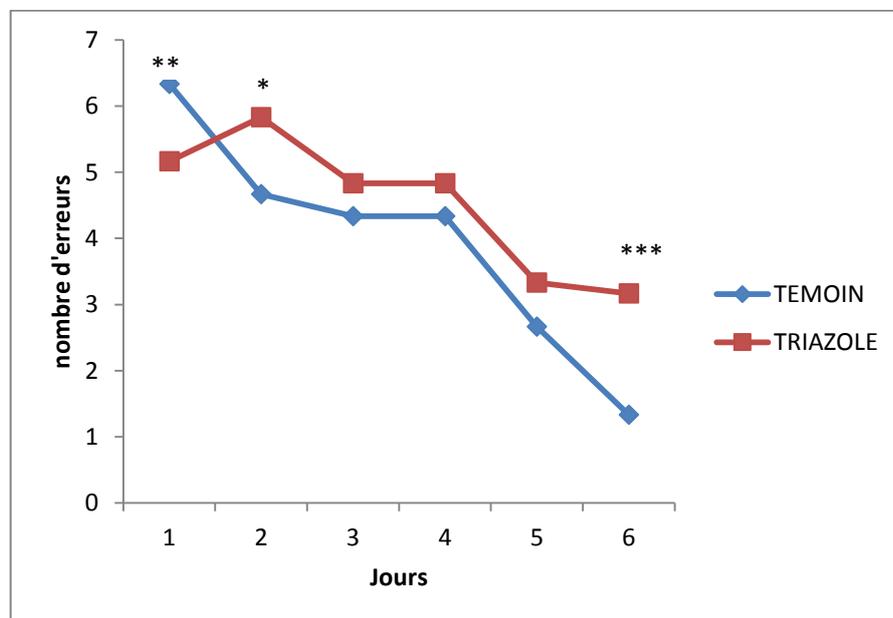


Figure23 : Apprentissage et mémoire dans le labyrinthe de Barnes

A. Temps d'exposition sur plateforme avant de visiter la cible

B. Nombre de visites avants de visiter la cible

I.2.3 Test obscurité /lumière :

L'analyse statistique révèle que durant le test du Dark and Light, le temps passé dans l'obscurité (dark) chez les rats exposés au 5PTT sont significativement augmentés ($p < 0,001$) par rapport aux sujets témoins, tandis que le temps passé dans le light ainsi que le nombre de transition chez les rats exposés au 5PTT sont significativement réduits ($p < 0,01$; $p < 0,05$) par rapport aux sujets témoins. (Figure 24)

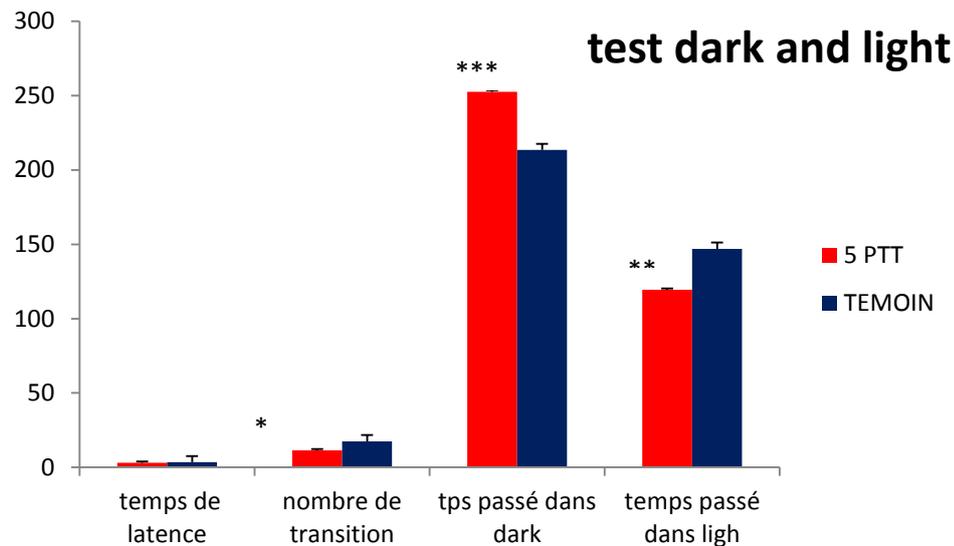


Figure 24 : Exploration lors du test obscurité /lumière des rats

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (** * : $p < 0.001$; ** : $p < 0.01$; * : $p < 0.05$).
(5 PTT vs Témoin).

II Dosage de glucose :

Afin de justifier ces données expérimentales nous avons procédé à la détermination de la glycémie et la cortisolemie chez les rats des deux lots sachant que ces biomarqueurs sont de bons indicateurs de stress.

Les résultats montrent une diminution très significative du taux de glucose sanguin ($p < 0.01$) chez les rats exposés au 5 PTT par rapport à celle de lot témoins (Figure 25)

De même, les données relatives au taux du cortisol sanguin révèlent qu'il y a une augmentation hautement significative ($P < 0,001$) chez les animaux traités au 5 PTT comparé aux animaux témoins (Figure 26)

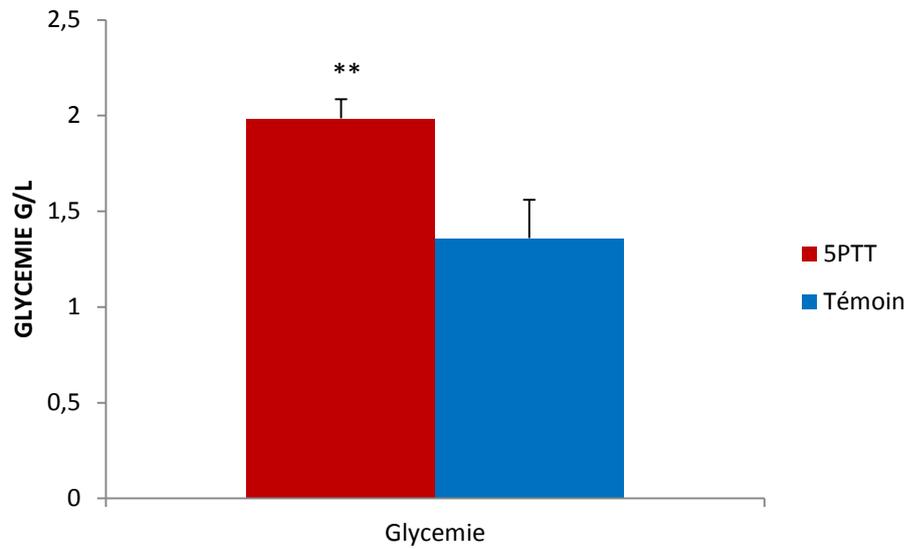


Figure 25 : Comparaison entre la glycémie chez les différents groupes traités et non traités (** : $p < 0,01$). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (5 PPT vs témoins)

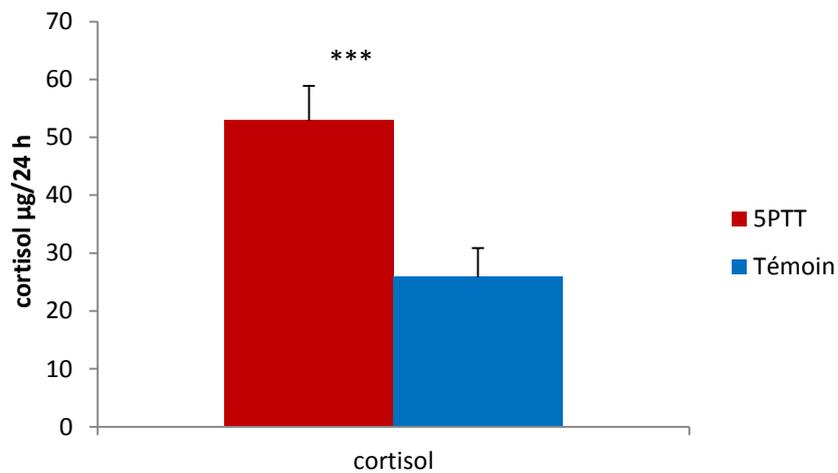


Figure 26: Comparaison du taux de cortisol entre les rats témoins et les rats exposés au 5 PTT. Les valeurs sont exprimées au moyenne \pm SEM. (***) $p < 0.001$). (5 PTT vs Témoin)

III Résultat d'exposition aigue :

III.1 Activité des enzymes du statut oxydants au niveau cervical :

III.1.1 Glutathion peroxydase :

Nos résultats illustrent une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de l'activité enzymatique de GSH-Px chez les rats exposé au 5PTT par rapport aux rats traités par EP tandis qu'aucune augmentation significative n'a été enregistrées chez les rats traités par le DMSO (Figure 27)

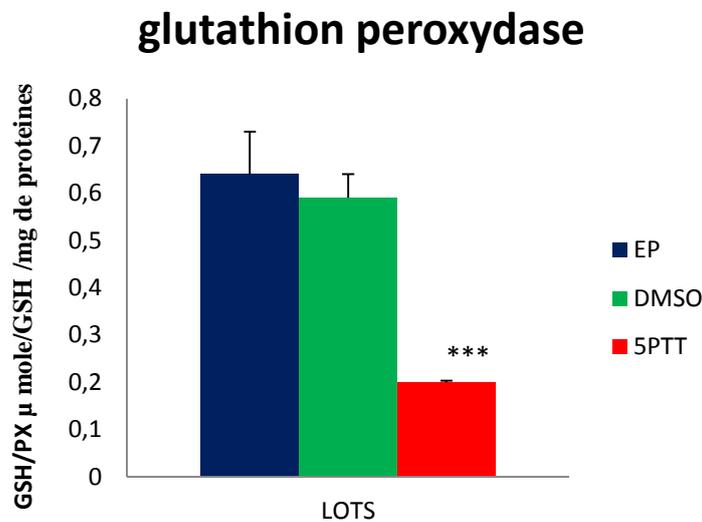


Figure 27 : comparaison de l'activité enzymatique de Glutathion peroxydase au niveau cervical des rats traités par 5PTT avec les témoins eau physiologique, et le DMSO

*Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (** * : $p < 0.001$). (5 PTT vs EP), et (DMSO vs EP).*

III.1.2 Catalase :

Les résultats obtenus, révèlent une diminution très significative ($p < 0.01$) de la teneur cervicale de la catalase chez les rats exposé au 5PTT par rapport au rats témoins alors que aucune augmentation significative n'a été enregistrées chez les rats traités par le DMSO et rats traités au eau physiologie.(Figure 28)

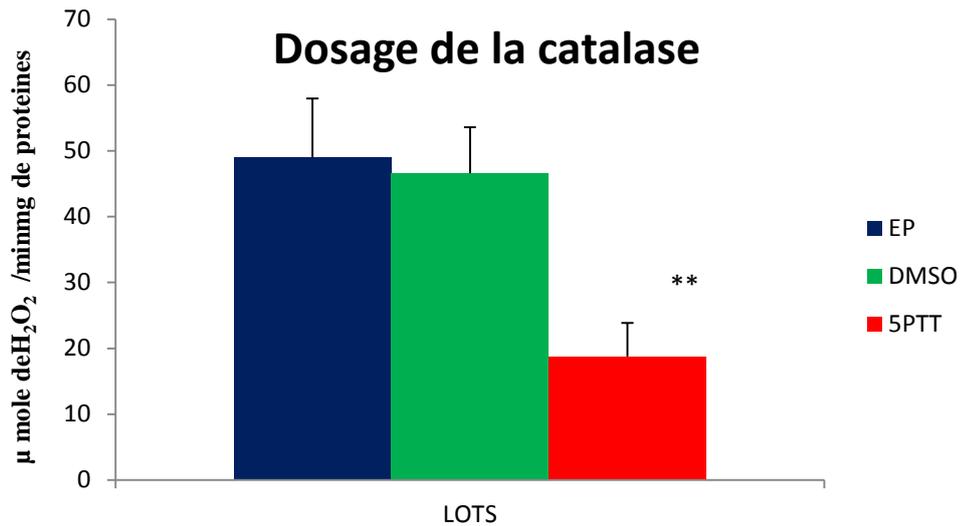


Figure 28 : L'effet du 5 PTT sur l'activité enzymatique de la Catalase au niveau cervical des rats traités par 5PTT avec les témoins eau physiologique, et le DMSO, Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (** : $p < 0.01$). (5 PTT vs EP).et (DMSO vs EP).

III.1.3 Glutathion réduit :

Les résultats relatifs à, L'analyse statistique de l'activité de Glutathion réduit montre qu'il n'existe pas de Différences significatives chez les rats traités avec le 5 PTT, rats traités par l'EP et les rats traités par le DMSO. (Figure 29)

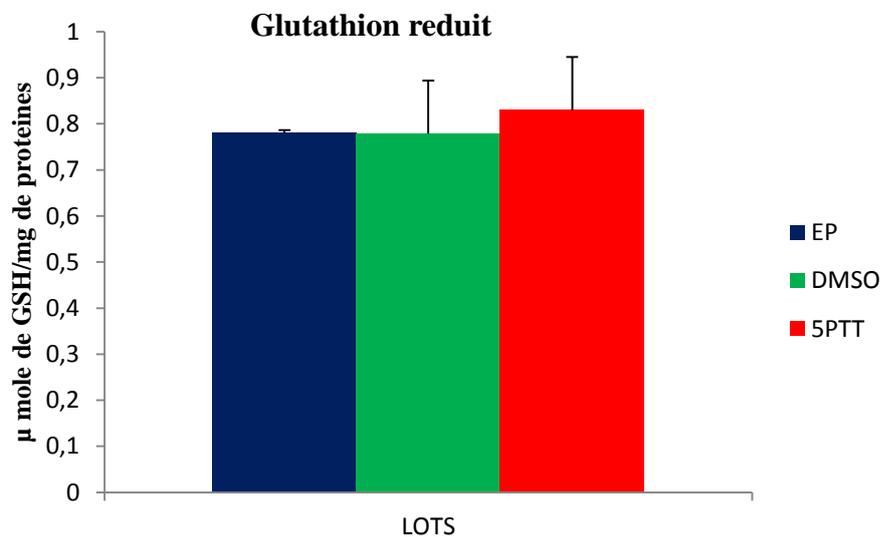


Figure 29 : L'effet du 5 PTT sur l'activité enzymatique de Glutathion réduit au niveau de cervical des rats traités par 5PTT avec les témoins eau physiologique, et le DMSO, Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (** * : $p < 0.001$; ** : $p < 0.01$; * : $p < 0.05$). (5 PTT vs EP).et (DMSO vs EP)

Discussion

Discussion:

Le triazole et ses dérivés ont attiré beaucoup l'attention des scientifiques depuis quelques décennies en raison de leurs valeurs thérapeutiques (**Holla et al.2005**). Il découle de la littérature que les dérivés de triazole possèdent une large gamme de les activités pharmacologiques telles que les antimicrobiens (**Chen et al.2000**), Analgésique (**Hafez et al.2008**), anti-inflammatoire, anesthésique local (**Banu et al.1999**), Anticonvulsivant (**Guan et al.2007**), Antiviral (**Johns et al.2009**), et activité anticancéreuse (**Duran et al.2002**). De nombreux dérivés à base de triazole sont disponibles en tant que Médicaments (**Sztanke et al.2008**).

L'intérêt de cette étude est basé sur l'impact d'une exposition aiguë et subchronique au 5 phenyl-1,2,4-triazole 3 thiol sur les fonctions neurocomportementales et l'étude du statut oxydatif cérébral chez les jeunes rats wistar.

Partie 1 : exposition subchronique

I.1 La croissance pondérale et le poids de cerveau :

Les résultats de notre expérimentation ont montré que l'exposition des rats au 5 PTT a une dose de 10 mg/kg provoque une diminution significative du poids corporel des rats par rapport aux rats témoins, Cela a pu être expliqué par le fait que le 5PTT a induit une réduction de la consommation de la nourriture (effet anorexigène) qui est due à l'action de 5 PTT sur certains centres nerveux responsables du contrôle de la faim dans le cerveau (**Moser et Macphail 1989**). Ces résultat son accord avec ceux (**Moser et al.2001**), qui rapportent que la diminution du poids est intimement liée à la réduction de la prise alimentaire suite à une exposition au triazole.

En outre, Bonnard et al., 2010, ont montré une réduction significative du poids corporel des rats wistar exposés au prothioconazole du 6ème au 19ème jour de grossesse à des doses de 500 ou 1000 mg / kg / jour. Ce composé pourrait affecter en particulier les récepteurs dopaminergiques, sérotonergiques et glutamatérgiques en sachant que la dopamine est impliquée dans la physiologie de la faim (**Reeves et al,2004**) et pourrait jouer le rôle principal dans le contrôle de la satiété (**Torres et Nowson, 2007**).

De même, dans la même série d'expérimentation nous avons observé une réduction significative du poids cérébral qui peut être expliqué selon (**EPA.2009 ; PRD.2012**) par

une diminution du poids des structures cérébrales. Des observations similaires ont été rapportées par différents auteurs (**Bonnard et al, 2010**).

I.2 Les tests neurocomportementaux :

Pour évaluer l'état de l'anxiété, la mémoire et l'exploration de l'activité locomotrice des rats de notre expérimentation ; Nous avons choisi une batterie des tests d'ordre neurocomportementales dont : le test **d'open Field**, **labyrinthe de Barnes** et le test **Dark and Ligh**, accompagner d'un dosage du glucose sanguin et le cortisol pour estimer l'état de stress chez l'ensembles des rats expérimentaux.

Concernant le test **d'open Field** chez les rats traites par le 5PTT a provoqué une hypoactivité locomotrice, ce changement dans l'exploration d'environnement peut être expliqué par la peur de l'environnement nouveau (**Jones.1986**) ou l'action de ce produit sur le système de transmission dopaminergique qui se traduit soit par une baisse de la synthèse et de la libération des neurotransmetteurs dans la fente synaptique, soit par inhibition des récepteur post synaptiques. Ces résultats sont en accord avec les travaux entrepris par (**WHO, 2004**), qui rapport que le triadimefone diminue l'activité locomotrice par inhibition de la synthèse et la libération de dopamine dans la synapse. (**Walker et Mailman, 1996 ; Ikaidi et al., 1997**)

De plus, Crofton, 1996 a indiqué que l'exposition au triadimefon à une dose de 50-400 mg / kg induit une diminution du recaptage de la dopamine par les fentes pré-synaptiques. De même, d'autres chercheurs ont montré que l'action du triadimefon induit une baisse de la synthèse, la libération de la dopamine ou l'inhibition des récepteurs D1 et D2 de la dopamine et une diminution de 30% de la concentration de DA dans le striatum chez les rats traités avec 200 mg / kg i.p. Triadimefon. (**Walker et al, 1990, Filipov et Lawrence,2001 , Gagnaire et Micillino, 2006**)

Par ailleurs, le test dans le test du **labyrinthe de Barnes** a rapporté que le nombre d'erreurs et le temps écoulé avant de trouver la cible des rats traites par le 5 PTT est significativement élevé par rapport les rats témoins. Ces résultats suggèrent que le 5 PTT a provoqué l'inhibition de l'apprentissage et la mémoire de référence spatiale.

(**Ma M, Chen et al,2007**) indiquant que l'exposition au tebuconazol a causé des déficits neuro-comportementaux chez les rats. Ce déficit d'apprentissage est bien corrélé aux résultats neuropathologiques (perte de cellules pyramidales dans l'hippocampe). (**Moser et al, 2001**). De plus, le résultat trouvé par (**Lingappa et al 2008**) selon lequel le déficit

alternatif pour ce test observé chez les rats exposés au triazole, serait dû à une augmentation de la sécrétion des médiateurs chimiques qui ont une incidence sur l'apprentissage et la mémoire, comme certaines cytokines (**Lathe, 2001**).

Xi et al., 2012 ont montré que le triadimefon inhibait l'apprentissage spatial et la mémoire de référence spatiale altérée et la diminution de la concentration d'acide rétinoïque dans l'hippocampe.

De même, le test du **compartiment obscurité / lumière** (dark and light test) qui est utilisé pour déterminer l'état de stress chez les rongeurs, sachant que ces derniers ont généralement horreur des endroits très éclairés. Ainsi, plus l'animal est anxieux, plus son exploration se réduira au compartiment sombre (**Langen et al.,2005**)

Nous avons noté que les animaux exposés au 5PTT avaient une préférence pour les espaces noirs et fuyaient les espaces lumineux. Cela reflète un niveau d'anxiété significativement élevé par rapport aux animaux témoins. Ces résultats montrent que le 5PTT a considérablement réduit le pouvoir d'exploration des animaux reflétant un comportement anxieux (**Fairon, 2006**).

Par conséquent, le myclobutanil, qui est un dérivé de triazole, provoque une inhibition du récepteur 5HT impliqué au niveau central jouant un rôle dans le contrôle de l'anxiété et de la dépression. Sachant que le système sérotonergique a un rôle central dans la modulation de l'anxiété (**Voigt,1999**), une augmentation des taux de 5-HT dans l'hippocampe est l'origine d'un effet anxiogène (**Reeves et al 2004**).

De même, des études antérieures in vitro ont révélé que le triadimefon se lie de façon compétitive au transporteur de dopamine et inhibe son absorption (**. Ikaidi et al, 1996, Hill et al,2000**)

Afin de confirmer ces données expérimentales nous avons procédé à un dosage du cortisol et le glucose sanguin qui sont des bons indicateurs de stress. L'exposition au 5 PTT a permis d'enregistrer une hyperglycémie accompagnée d'une hypercortisolemie chez les animaux traités comparés aux sujets témoins.

Cela signifie que le 5 PTT entraîne un dysfonctionnement du métabolisme énergétique, cette augmentation de la concentration sanguine du glucose et le cortisol est probablement le résultat de la glycogénolyse hépatique et hypersécrétion des hormones de stress (**Gillies et al., 2008 ;Heiden et al ., 2009**).

Les travaux de **(Vander Heiden et al., 2009)**. confirment que l'exposition au Propiconazole a une dose 157.6 mg/kg par jour inhibe le NADH nécessaire pour la phosphorylation oxydative de la chaîne respiratoire au niveau de la mitochondrie du foie qui se traduit par une réduction de la formation d'ATP nécessaire pour la synthèse de glycogène (ainsi il affecte le cycle du krebs avec altération du métabolisme de pyruvate **(Nesnow et al., 2009)** . En effet les travaux réalisés par **(Rodriguez et Acosta, 1996 ; Nesnow et al., 2011)**,révèlent que l'exposition au propiconazole engendre un effet stressant qui se traduit par une hyperglycémie sous l'action des hormones de stress à savoir, la cortisone au niveau de l'hypothalamus, l'hypophyse et la glande surrénale respectivement, activant ainsi les enzymes du métabolisme glucidique.

Les dérivés de triazole inhibent les récepteurs 5HT₂, qui sont impliqués au niveau central périphérique jouant un rôle dans le contrôle de l'anxiété et la dépression. Une augmentation de niveau 5 HT dans l'hippocampe est à l'origine d'un effet d'anxiogène **(Reeves et al.2004)**

Partie 2 : exposition aigue :

Activité des enzymes du statut oxydant au niveau cérébral

Les enzymes antioxydants endogènes sont responsables de la neutralisation de radicale libre ainsi que de la prévention de son action responsable de dommage tissulaire. Le stress oxydatif résulte d'un déséquilibre entre la production de ROS et défense anti oxydantes, qui à son tour provoque une série des dérèglements des fonctions cellulaires. Les enzymes anti oxydantes, telles que la CAT et GPx constituent une équipe solidaire contre ROS (**Bandyopadhyay et al, 1999**)

Le glutathion réduit

Le glutathion (GSH), un thiol antioxydant endogène est un agent réducteur physiologique responsable de maintenir le statut redox intracellulaire (Kamboj et al., 2008). Il joue un rôle majeur dans la protection et la détoxification contre les composés toxiques et les ERO en agissant comme cosubstrat d'enzymes antioxydantes telles que des GPx et des GST **(Garg et al., 2009 ;Brown et al., 2004 ; Li et al., 2010 ; EL-Demerdash et al., 2012)**.

Dans notre étude expérimentale, on a constaté que la concentration du glutathion ne présente aucune différence significative entre les rats traités par le 5 PTT et les rats témoins eau physiologique et DMSO. Ce résultat mène à suggérer que le thiol présent dans le 5 PTT a été utilisé pour piéger les radicaux libres et de ce faite le taux du glutathion n'est pas

Le glutathion peroxydase

GSH-Px, c'est une enzyme dépendante de sélénium, elle décompose le peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire par l'oxydation du glutathion réduit (**Ewis and Abdel-Rahman, 1995**).

Les données obtenues en termes d'activité enzymatique ont révélés une diminution significative de GSH-Px du cerveau des rats traités par le 5 PTT par rapport aux rats traités par l'eau physiologique et le DMSO

La baisse d'activité de GSH-Px pourrait être expliquée principalement par une surproduction de peroxyde d'hydrogène et l'épuisement de GSH dans la détoxification (**Shila et al., 2005**). en plus de l'effet de l'hyperglycémie qui produit les ROS et empêche également l'activité des enzymes antioxydantes telles que le GSH-Px par glycosylation (**Sindhu et al., 2004**). Ces radicaux libres produites affectent le cerveau qui est fortement susceptible en raison de leur activité métabolique oxydante accrue et leur teneur élevée en acides gras polyinsaturés (AGPI) (**Evans, 1993**)

Rai et Sharma (2007) et Rai et al. (2009) ont signalé que le carbofuran (un insecticide carbamate) a causé la génération des ERO dans le cerveau de rat, augmenté significativement la LPO, aussi (**Gupta et al. 2009**) a proposé que LPO pourrait être l'un des mécanismes de neurotoxicité et augmenté la peroxydation lipidique et a produit un état du stress oxydant.

Catalase

La catalase est une enzyme ubiquitaire et fait partie de la première ligne de défense antioxydante importante (**Garg et al., 2008 ; 2009**). Elle réduit l'H₂O₂ en H₂O et O₂ pour empêcher l'induction d'un état du SO, maintenir l'homéostasie des cellules et jouer un rôle important dans l'élimination des ERO (**Manawadi et Kaliwal, 2010**).

Dans notre travail, nous avons enregistré une diminution de l'activité enzymatique de la catalase suite à l'exposition des rats au 5 PTT, La diminution observée de l'activité de la CAT pourrait probablement être due à l'utilisation de cette enzyme dans la conversion du H₂O₂ en H₂O (**Garg et al., 2008 ; 2009**). Par ailleurs, L'épuisement significatif des

niveaux du catalase confirme le potentiel du 5 PTT d'induire un stress oxydant dans les différents tissus

La réduction de l'activité enzymatique de CAT est la conséquence de divers effets délétères dus à l'accumulation des radicaux superoxydes et hydroxyles (**Ramachandran and Saravanan, 2013**).

Enfin, les études publiées par **EPA (2006)** proposent que les triazoles présentent divers effets néfastes sur les systèmes biologiques des mammifères, en particulier sur le système nerveux. Le rapport de l'EPA montre donc que l'exposition aux triazoles, en général, provoque une neurotoxicité, y compris: les lésions neuropathologiques chez le cerveau du rat et de la souris, une altération des processus d'apprentissage, de la mémorisation et de la coordination motrice (**Santana et al, 2009, Faro LRF et al, 2012**).

catalase

D'autre part dans le diabète, la production non contrôlée de peroxyde d'hydrogène due à l'autooxydation du glucose, la glycation des protéines et l'oxydation des lipides ont mené à une diminution marquée de l'activité de CAT (**Rajasekaran et al., 2005**).

Divers pesticides, sont capables de générer des ERO (**Stevenson et al., 1995**). Ces oxydants sont impliqués dans la toxicité des pesticides en raison de leurs effets nocifs sur la santé humaine. Dans cette optique, les radicaux libres générés « in vivo » sont responsables de l'induction du stress oxydatif. Les ERO produites dans les cellules tel que l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et les radicaux hydroxyles, sont extrêmement réactives et ont des effets délétères sur la structure des protéines, des lipides et de l'ADN (**Favier, 2003**) et par conséquent, le cerveau et les autres organes se trouvent endommagés de manière irréversible (**Agrawal et Sharma, 2010**)

L'augmentation du taux des ERO à l'intérieur des cellules peut être due soit à une surproduction de ces substances réactives ou à une diminution de la capacité de les neutraliser (**Sun, 2001 ; Kirschvink et al., 2008**).

Conclusion

Conclusion :

Les résultats obtenus ont montré que l'exposition subchronique et aigue au 5 PTT à une dose de 10 mg/kg chez les rats entraîne une diminution significative de l'activité locomotrice (verticale et horizontale), qui s'accompagne par un changement du comportement stéréotypé. Cette hypoactivité locomotrice pourrait être la conséquence de l'action de ce composé qui altère certaines voies de neurotransmetteurs. La perturbation de la synthèse des catécholamines ou bien de leur libération au niveau synaptique.

Les résultats relatifs aux tests de comportement plus précisément ceux de l'anxiété et la dépression dévoilent clairement que l'exposition au 5 PTT entraîne un état anxieux. Ces états ont été confirmés par le dosage de glucose et le cortisol indiquant ainsi une hyperglycémie et une hypercortisolemie chez les animaux exposés comparés aux animaux témoins.

L'exposition au 5 PTT à jeune âge pourrait être un facteur critique responsable des déficits comportementaux ainsi que la perturbation de certaines voies métaboliques.

En outre, l'exposition aigue de 5 PTT à une dose de 200 mg/kg a provoqué un état de stress qui se traduit par une diminution de la teneur cérébrale de l'activité du glutathion peroxydase (GSH-Px) et de l'activité du catalase chez les rats traités au 5 PTT par rapport aux rats traités par EP et ceux traités par le DMSO.

En conclusion, Le 5-PTT est considéré comme un critère d'effet toxicologique pertinent dans l'évaluation des risques pour la santé humaine, qui peut causer des troubles neurologiques interprétés par un état de déséquilibre dans la balance oxydatif dont on cite la diminution des enzymes anti-oxydantes telles que Le glutathion peroxydase et la catalase.

Ce désordre neurologique est accompagné par des troubles de comportements interprété par un état d'anxiété, de stress et de déficit de mémoire.

A la lumière de ces résultats trouvés, il serait envisageable d'entreprendre un protocole expérimental plus approfondi portant sur différents volets :

- Effectuer des analyses immunohistochimique au niveau cérébral.
- Effectuer une thérapie de l'intoxication chronique au triazole par des plantes médicinales.

- Tester le 5 PTT sur le système reproductif femelle et males (ovaires et testicules) et de savoir l'action de ces molécules sur les hormones introduites dans le cycle menstruel féminin et la mobilité, concertation et morphologie des spermatozoïdes, afin de déterminer un lien avec la stérilité

Références Bibliographiques

A

J.-L. M. Abboud, C. Foces-Foces, R. Notario, R. E. Trifonov, A. P. Volovodenko, V. A. Ostravskii, I. Alkorta, J. Elguero; Eur. J. Org. Chem., **2001**, 3013-3024.

Agrawal R, Pancholi S. Synthesis, characterization and evaluation of antimicrobial activity of a series of 1, 2, 4-triazoles. Der Pharma Chemica. **2011**;3(6):32-40

MW. Akhter, MZ. Hassan, & M. Amir, "Synthesis and Pharmacological Evaluation of 3-Diphenylmethyl-6- substituted-1,2,4-triazolo[3,4-b]-1,3,4-thiadiazoles: A Condensed Bridgehead Nitrogen Heterocyclic System," Arab. J. Chem., 7 (6), 955-963, **2014**.

Aktay G, Tozkoparan B, Ertan M. Investigation of antioxidant properties of some 6-(alpha-aminobenzyl) triazole [3,2-b]-1,2,4- triazole-5-ol compounds. J Enzyme Inhib Med Chem **2008** ;27:1-5.

Almasirad.A.,Tabatabai.S.A.,Faiza.M.,Kebriaeezadeh.a.,mehrabi.N.,Dalvandi.A.,Shafiee.A.2004.bioorganic & Medicinal Chemistry

ANSES. 2011, 27-31 av. du Général Leclerc, 94701 Maisons-Alfor Cedex.

Asif M. Antiviral and antiparasitic activities of various 10/substituted triazole derivatives: A mini. Chemistry International. 2015;1(2):71-80

B

Bahnes zohra,2010 synthèse,étude antibactérienne de dérivés 124 triazole ;4-amino-124triazole ;134ozadizole-s-et N-nucléosides de l'acide valérique

Barnes, CA (1979). "Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat." J Comp Physiol Psychol. **1979** Feb;93(1):74-104

Baskin S.I and Salem H.(1994). Oxidant, Antioxidant and Free Radicals. Academic pressInc.

Bear, F.B., Connors, B.W., Paradiso, M.A., 2010. Neurosciences, à la découverte du cerveau. 3ème édition, traduit de *Neuroscience: Exploring the Brain, third Edition* par Nieoullon A. Editions Pradel.

Bladin,J.,Ber.,1885,18,1544.

Bonnard N, Jargot D, FalcyM, Fastier A, OudarS, Rambourg MO. prothioconazole ,INRS ; Edition **2010** :1-8.

Bonnefont-Rousselot, D., Théron, P., Delattre, J. (2003). Radicaux libres et anti-oxydants. In : Delattre, J., Durand, G., Jardillier, J.C. Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires. Médecine-sciences Flammarion, Paris. 59-81

C

Chen,P,J,moore ,T,and Nesmow,S.(2008) cytotoxic effets of propiconazole an dits metabolites in mouse and human hepatoma cells and primary mouse hep atocytes.toxicol.invitru 22,1476_1483.

Chen MD, Lu SJ, Yuag GP, Yang SY, Du XL. Synthesis and antimicrobial activity of some heterocyclic beta-enamino etser derivatives with 1,2,3-triazole. *Heterocyclic Comm* 2000;6:421–426.

Conrad CD, Grote KA, Hobbs RJ, Ferayorni A. Sex differences in spatial and non-spatial Y-maze performance after chronic stress. *Neurobiology of learning and memory.* 2003;79(1):32-40.

Costall B, Domeney A, Gerrard MP, Kelly AM, Naylor ER. Zacopride: Anxiolytic profile in rodent and primate models of anxiety. *J Pharma Pharmacol* 1988;40:302-5.

Crofton K, Boncek V, MacPhail R. Evidence for monoaminergic involvement in triadimefon-induced hyperactivity. *Psychopharmacology.* 1989;97(3):326-30

Crofton K. A structure-activity relationship for the neurotoxicity of triazole fungicides. *Toxicology letters.* 1996;84(3):155-9.

D

Darley-USmar V., Wiseman H and Halliwell B . (1995). Nitric oxide and oxygene radicals: a question of balance.

Dauge V, Rossignol P, Roques BP. Comparison of the behavioural effects induced by administration in rat nucleus accumbens or nucleus caudatus of selective μ and δ opioid peptides or ketatorphan an inhibitor of enkephalin-degrading-enzymes. *Psychopharmacology.* 1988;96(3):343-52.

DAUGE V, KALIVAS PW, DUFFY T, ROQUES BP. (1992) Effect of inhibiting enkephalin catabolism in the VTA on motor activity and extracellular dopmine. *Brainres.* , 599, 209-214

Delattre J., Beaudoux J.L., Bonnefont-Rousselot D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales, Paris. 405p.

AA. Dippold, & TM. Klapötke, “Nitrogen-Rich Bis- 1,2,4-triazole, A Competitive Study of Structural and Energetic Properties, ” *Chem.-A Euro.*, 18 (52), 16742- 16753, 2012KD.

Dobbs, J. Feldman, WJ. Marshall, SJ. McLain, JS. Meth, GD. Vo, & Y. Wang, “Phosphorescent Iridium (III) Complexes of Cyclometalated 5-Aryl-1H- 1,2,4-Triazole Ligand Structural, Computational, Spectroscopic, and Device Studies, ” *J. Phys. Chem. C.*, 118 (48), 27763–27771,

Durackova Z., Djrolo F., Hougbe H., Avode G., Attoulou V., Addra B., Kodjoh N. Avimadj M., 2008. Oxidants, Antioxidants and Oxidative stress. Mitochondrial medicine.

Duran A, Dogan HN, Rollas H. Synthesis and preliminary anticancer activity of new 1,4-Dihydro-3-(3-hydroxy-2-naphthyl)-4-substituted-5H-1,2,4-triazoline-5-thiones. *Farmaco* **2002** ;57:559–564.

Ding Y, Qiao A, Wang Z, Goodwin JS, Lee E-S, Block ML, et al. Retinoic acid attenuates β -amyloid deposition and rescues memory deficits in an Alzheimer's disease transgenic mouse model. *The Journal of Neuroscience*. **2008**;28(45):11622-34.

F

EFSA (European Food Safety Authority).2009.Scientific Opinion on Risk Assessment for a Selected Group of Pesticides from the Triazole Group to Test Possible Methodologies to Assess Cumulative Effects from Exposure through Food from these Pesticides on Human Health

EPA (U.S. Environmental Protection Agency) 2009.HPV.challenge program test plan submission 1_H_1_2_4

EPA (U.S. Environmental Protection Agency),2006. 1,2,4-Triazole, triazole alanine triazole acetic acid:human aggregate risk assessment in support of reregistration and registration actions for triazole-derivative fungicide compounds.

Faro LRF. Neurotoxic Effects of Triazole Fungicides on Nigrostriatal Dopaminergic Neurotransmission. Edited by Odile Carisse. **2010**:405

F

Favier A. (1997). Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann Biol Clin* **55**

Favier A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*

FCR federation pour la recherche sur le cerveau 2017 Le cerveau malade et ses maladies neurologiques

Fontaine, É. (2007). Radicaux libres - Stress oxydatif. *Cah. Nutr. Diét.* **42** : 2.

Filipov NM, Lawrence DA. Developmental toxicity of a triazole fungicide: consideration of interorgan communication. *Toxicological Sciences*. **2001**;62(2):185-6.

Favier A. (1997). Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann Biol Clin* **55**

Faro LRF, Alfonso M, Maués LA, Durán R. Role of ionotropic glutamatergic receptors and nitric oxide in the effects of flutriafol, a triazole fungicide, on the in vivo striatal dopamine release. *The Journal of toxicological sciences.* **2012**;37(6):1135-42.

G

Gagnaire, F., & Micillino, J. C. (2006). Effects of triadimefon on extracellular dopamine, DOPAC, HVA and 5-HIAA in adult rat striatum. *Toxicology*, *217*(2), 91-104.

Goetz, A.K., Ren, H., Schmid, J.E., Blystone, C.R., Thillainadarajah, I., Best, D.S., Nichols, H.P., Strader, L.F., Wolf, D.C., Narotsky, M.G., Rockett, J.C., Dix, D.J.(2007) .

Disruption of testosterone homeostasis as a mode of action for the reproductive toxicity of triazole fungicides in the male rat. *Toxicol . Sci.* *95*, 227–239

Guan LP, Jin QH, Tian GR, Chai KY, Quan ZS. Synthesis of some quinoline-2(1*H*)-one and 1,2,4-triazolo [4,3-*a*]quinoline derivatives as potent anticonvulsants. *J Pharm Sci* **2007**;10:254–262.

M. Gudelj, GO. Fruhwirth, A. Paar, F. Lottspeich, KH. Robra, A. Cavaco-Paulo, & Gübitz GM., “A Catalase- Peroxidase from a Newly Isolated Thermoalkaliphilic *Bacillus* sp. with Potential for the Treatment of Textile Bleaching Effluents,” *Extremophiles*, *5*, 423-429, **2001**.

Guillemette CREPEAUX.2012 Exposition périnatale à un mélange d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques chez le rat : Evaluation des effets neurotoxiques à court et à long terme

Giles GI, Jacob C. Reactive sulfur species: an emerging concept in oxidative stress. *Biol Chem.* **2002**

Gautam N, Chourasia O. Synthesis, antimicrobial and insecticidal activity of some 4*H*-1, 2, 4 triazole derivatives. *Indian journal of chemistry Section B, Organic including medicinal.* **2010**;49(7):956.

Gillies RJ, Robey I, Gatenby RA. Causes and consequences of increased glucose metabolism of cancers. *Journal of Nuclear Medicine.* **2008**;49(Suppl 2):24S-42S.

H

Hafez HN, Abbas HA, El-Gazzar AR. Synthesis and evaluation of analgesic, anti-inflammatory and ulcerogenic activities of some triazolo- and 2-pyrazolyl-pyrido

[2,3-d]-pyrimidines. Acta Pharm **2008**;58:359–378.

FA. Hassan , & KW. Younus , “Biological Evaluation of Some Azole Derivatives in Cooling Fluids (Lubricant Oils),” Res. J. Bio. Sci., 7 (1), 48-51, **2012**.

Holla BS, Mahalinga M, Karthikeyen MS , Poojary B, Akberali PM, Kumari NS. Synthesis characterization and antimicrobial activity of some substituted 1,2 ,3-triazoles. Eur J Med Chem **2005**;40:1173–1178.

I

Ikaidi.Mu,Akunne.HC ,Soliman.KF 1097.Bchavioral and neurochemical of fects of acute and triadimefone in the male rat .neurotoxicology:18.771.780

IPCS INCHEM . (1985). Joint Meeting on Pesticide Residues: 733. Triadimefon, Pesticide Residues in food evaluations Part II Toxicology

RM. Izatt, GC. Lindh, RL. Bruening, P. Huszthy, CW. McDaniel, JS. Bradshaw , & JJ. Christensen , “Separation of Silver from Other Metal Cations Using Pyridone and Triazole Macrocycles in Liquid Membrane Systems,” Anal. Chem., 60 (17), 1694-1699, **1988**.

INRS. 2010 ficge établie par les services technique et médicaux de INRS (N.bonanard,D.jargot,M.facy) avec la participation de l’AFSSA(A. fastier, S. oudar, M,O.Rambourg)

I

S. Jess, S. Kildea, A. Moody, G. Rennick, AK. Murchie, & LR. Cooke, “European Union Policy on Pesticides: Implications for Agriculture in Ireland, ” Pest. Mang. Sci., 70 (11), 1646-1654, **2014**

B. Jiang, X. Huang, H. Yao, J. Jiang, X. Wu, S. Jiang, Q. Wang, T. Lu, & J. Xu, “Diaryl-1,2,4-Triazoles Bearing N-Hydroxyurea Moiety as Dual Inhibitors of Cyclooxygenase-2 and 5-Lipoxygenase, ” Org. Biomol. Chem ., 12 (13), 2114-2127 , **2014**.

Johns BA, Weatherhead JG, Allen SH, Thompson JB, Garvey EP, Foster SA.

The use of oxadiazole and triazole substituted naphthyridines as HIV-1 integrase inhibitors Part 1: Establishing the pharmacophore. Bioorg Med Chem Lett **2009**;19:1802-1806

Jones R.B_1986 the tonic immobility reaction of the Domestic fowl _a Re poultry ,science journal;42_82_96

Janeesn.c. 2013, résumé des caractéristiques pharmaceutique du produit ; BE 190294.

Jeyaratnam J. Acute pesticide poisoning: a major global health problem. *World Health Stat Q.* **1990**;43(3):139-44.

K

Kamel Aloui,2012 **Caractérisation** du cerveau humain: étude de la faisabilité en biométrie

Karthikeyan.M.S.2009.European Journal of Medicinal Chemistry,827-833.

Kehrer J.P. (1993). Free radcals as mediators of tissue injury and disease. Critical review in Toxicology.

Kirkwood, T. B. (2005). "Understanding the odd science of aging Cell."

Kumudha D, Reddy R, Kalavathi T. synthesis and evaluation of some 1, 3, 4-thiadiazoles having substituted 1, 2, 4-triazole moiety for anticonvulsant and cns depressant activity. 2014

Kumar PV, Rao VR. Synthesis and antitubercular, antiviral and anticancer activity of 3-(3-mercaptoalkyl-7H-[1, 2, 4] triazolo [3, 4-b][1, 3, 4] thiadiazin-6-yl) chromen-2-one and its derivatives. *Indian J Chem B.* **2008**;47:106-11.

Kumar R, Yar MS, Chaturvedi S, Srivastava A. Triazole as pharmaceuticals potentials. *Int J pharm Tech res.* 2013;5(4):1844-69.

L

Langen B, Egenglend u ,Bernoster K, Klaus unverferth RD Rundfeldt C(2005) characterization in rats of the Anxiolytic potentiel of ELB 139 (1-(4-chlorophenyl)-4-piperidin-1-yl-1,5-dihydro-imidazol-2-on), a new agonist at the Benzodiazépine Binding site of the GABAA Receptor. *J pharmacol Exp ther* 314 (2):717-724.

Lannelongue ,M .(2010).communication sur le risque potentiel du carcinome épidermoïde lors de traitement de longue durée avec VFEN.rappel sur le risque d'évènements indésirables hépatiques ; 75014 paris

Lathe R. Hormones and the hippocampus. *Journal of Endocrinology.* **2001**;169(2):205-31. LNC Ligue nationale contre le cancer.2010: les tumeurs du Cerveau

LSC.2009 Ligue suisse contre le cancer Les tumeurs cérébrales et du système nerveux central

Lushchak VI (2011). Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions. *Journal of Amino Acids*

Lingappa B, Girisha K, Kalluraya B, Rai S, Kumari N. Regioselective reaction: Novel Mannich bases derived from 3-(4, 6-disubstituted-2-thiomethyl) 3-amino-5-mercapto-1, 2, 4-triazoles and their antimicrobial properties. *Ind J Chem.* **2008**;47:1858-64

London L, Flisher A, Wesseling C, Mergler D, Kromhout H. Suicide and exposure to organophosphate insecticides: cause or effect? *American journal of industrial medicine.* **2005**;47(4):308-21.

M

Mates, J.M., Perez-Gomez, C., Numez de castro, I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin. Biochem.* 32, 595-603

Menegola E, Broccia ML, Di Renzo F, Massa V, Giavini E. Craniofacial and Axial skeletal. 2005. Defects induced by the fungicide triadimefon in the mouse. *Birth defects research part B: Developmental and Reproductive Toxicology* 74:185-95

Menegola E, Broccia ML, Di Renzo F, Giavini E. Postulated pathogenic pathway in triazole fungicide induced dysmorphogenic effects. *Reproductive Toxicology.* **2006**;22(2):186-95

Michaël Lamy, 2011 Modélisation mécanique du cerveau de rat : Application au traumatisme cérébra

Mohamed OUKESSOU,2014 :Synthèse, Dérivation et Evaluation de Pharmacophores Hybrides Alcynyl-TriAzolyCarbinols N-glycosylés

Moise M, Sunel V, Profire L, Popa M, Desbrieres J, Peptu C. Synthesis and biological activity of some new 1,3,4 -thiadiazole and 1,2,4-triazole compounds containing a phenylalanine moiety. *Molecules* **2009**;14 :2621–2631.

VC Moser, Barone, Jr.,S.,Smialowicz,R.J.,Harris,M.W.,Davis,B.J. ,Overstreet,D., Mauney,M.,Chapin,R.E., 2001. The effects of perinatal tebuconazole exposure on adult neurological, immunological, and reproductive function in rats . *Toxicol.Sci.* 62,339352

Maden M. Retinoic acid in the development, regeneration and maintenance of the nervous system. *Nature Reviews Neuroscience.* **2007**;8(10):755-65.

Ma M, Chen Y, He J, Zeng T, Wang J. Effects of morphine and its withdrawal on Y-maze spatial recognition memory in mice. *Neuroscience.* **2007**;147(4):1059-65.

N

Nesnow S, Padgett WT, Moore T. Propiconazole induces alterations in the hepatic metabolome of mice: relevance to propiconazole-induced hepatocarcinogenesis. *Toxicological Sciences.* **2011**;120(2):297-309

Nesnow S, Ward W, Moore T, Ren H, Hester SD. Discrimination of tumorigenic triazole conazoles from phenobarbital by transcriptional analyses of mouse liver gene expression. *Toxicological Sciences*. **2009**:kfp076.

O

IB. Obot, & AS. Johnson, “Ab initio, DFT and TD- DFT Electronic Absorption Spectra Investigations on 3,5-Diamino-1,2,4-triazole, ” I.B. Obot et al., *Elixir Comp. Chem.*, 43, 6658-6661, **2012**.

WP. Ozimin´ski, JCz. Dobrowolski, & AP. Mazurek, DFT Studies on Tautomerism of C5-Substituted 1,2,3- Triazoles, ” *J. Mol. Str.*, 651-653, 697-704, **2003**.

P

Palaska, E., Şahin, G., Kelicen, P., Durlu, N. T., & Altinok, G. (2002). Synthesis and anti-inflammatory activity of 1-acylthiosemicarbazides, 1, 3, 4-oxadiazoles, 1, 3, 4-thiadiazoles and 1, 2, 4-triazole-3-thiones. *Il Farmaco*, 57(2), 101-107

PERSPECTIVES AGRICOLES • N° 345 • MAI 2008

DC. Pinto, CM. Santos, & AM. Silva, “Advanced NMR Techniques for Structural Characterization of Heterocyclic Structures,” *Recent Res. Dev. Heter. Chem.*, 37/661 (2), 397-475, **2007**

(PRD). Projet de décision d’homologation (2012)- 29 Fongicides techniques Tétraconazole.Santé Canada.

Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*. 1977;266(5604):730-2

Pellow S, Chopin P, File SE. Are the anxiogenic effects of yohimbine mediated by its action at benzodiazepine receptors? *Neuroscience letters*. **1985**;55(1):5-9.

R

Rajeev Kharb, Prabodh Chander Sharma & Mohammed Shahar Yar 2010
Pharmacological significance of triazole scaffold

DVN. Rao, ARG. Prasad, YN. Spoorthy , DR. Rao, & LK . Ravindranath, Synthesis, “Characterization and Pharmacological Studies of Sulphur Containing 1,2,4- Triazole Derivatives, ” *J. Taibah Uni. Med. Sci.*, 9 (4), 293-300, **2014** .

Rostom .A.F.,shalaby.A.El-Demellawy.A.2003, *European journal of Medicinal chemistry*; 38:959-974.

Reeves R, Thiruchelvam M, Richfield EK, Cory-Slechta DA. Behavioral sensitization and long-term neurochemical alterations associated with the fungicide triadimefon. *Pharmacology Biochemistry and Behavior.* **2003**;76(2):315-26

S

TP. Selby, “Heteroaryl Azole Herbicides, ” United states: Patent Application Publisher, **2001**

S. Sripriya 1, C. Subha, & A. Selvaraj, “The Inhibition Chemistry of 2-Amino, 5-Phenyl 1, 3, 4-Triazole for Aluminium in Hydrochloric Acid Solution,” *IOSR- JAC*, 6 (2), 25-29, **2013.**

Sztanke K, Tuzimski T, Rzymowska J. Synthesis, determination of the lipophilicity, anticancer and antimicrobial properties of some fused 1,2,4-triazole derivatives. *Eur J Med Chem* **2008**;43:404–419.

Shiradkar M, Pandit U, Akula KC, Maheta A, Kumar GVS. Microwave assisted synthesis and antimicrobial screening of fused triazoles. *Arkivoc.* **2006**;14:141-54.

Santana M, Rodrigues K, Duran R, Alfonso M, Vidal L, Campos F, et al. Evaluation of the effects and mechanisms of action of flutriafol, a triazole fungicide, on striatal dopamine release by using in vivo microdialysis in freely moving rats. *Ecotoxicology and environmental safety.* 2009;72(5):1565-71.

Santana M, Rodrigues K, Duran R, Alfonso M, Vidal L, Campos F, et al. Evaluation of the effects and mechanisms of action of flutriafol, a triazole fungicide, on striatal dopamine release by using in vivo microdialysis in freely moving rats. *Ecotoxicology and environmental safety.* **2009**;72(5):1565-71.

T

Y. Tatsumi, M. Nagashima, T. Shibanashi, A. Iwata, Y. Kangawa, F. Inui, WJJ. Sin, R. Pilla, & Y. Nishiyama, “Mechanism of Action of Efinaconazole, A Novel Triazole Antifungal Agent, ” *Antimicrob. Agent Chemother .,* 57 (5), 2405-2409, **2013.**

J. Tian , X. Ban, H. Zeng, J. He, Y. Chen, & Y. Wang, “The Mechanism of Antifungal Action Essential Oil From Drill (*Anethum Graveolens L.*) on *Aspergillus Flavus,* ” *P40S ONE*, 7 (1), 30147, **2012**

V

Vandana Sharma et al , Birendra Shrivastava1, Rakesh Bhatia1*, Mukesh Bachwani1, Rakhi Khandelwal1, Jyoti Ameta2 2011 EXPLORING POTENTIAL OF 1, 2, 4-TRIAZOLE: A BRIEF REVIEW

Y

Yassine N. Lésions sélectives de deux populations de neurones affectées dans la maladie d'Alzheimer: Impact sur les performances cognitives et l'histopathologie des souris tg2576: Strasbourg; 2011.

X

Xi J, Yang Z, Zeng C, Hu X, Wang J. Suppressive effect of triadimefon, a triazole fungicide, on spatial learning and reference memory in rats. Behavioural pharmacology. 2012;23(8):727-34.

W

Walker ,Q.D. mailman R.B.1996 triadimefon .and triadimenol :effects on monamine uptake and release .toxicology and applied pharmacolg :139_227_233

Walker QD, Lewis MH, Crofton KM, Mailman RB. Triadimefon, a triazole fungicide, induces stereotyped behavior and alters monoamine metabolism in rats. Toxicology and applied pharmacology. 1990;102(3):474-85

WHO .(world health organization) 2004, pesticide residues ,infood_358.

Wada T, Gao J, Xie W. PXR and CAR in energy metabolism. Trends in Endocrinology & Metabolism. 2009;20(6):273-9