

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE EL-HARRACH- ALGER

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة الحراش - الجزائر-

DEPARTEMENT DE TECHNOLOGIE ALIMENTAIRE

قسم تكنولوجيا الأغذية



Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences Agronomiques

Option : Sciences Alimentaires

Thème

**Effets de la phycocyanine et du jeûne alimentaire sur la stimulation des défenses du rat traité
par un pesticide**

Présenté par : BOUZAR Ahmed Chiheb

Jury :

Président :

Mr MEKIMENE. L

Professeur (E.N.S.A El Harrach)

Directeur de thèse :

Mr BITAM. A

Professeur (E.N.S.A El Harrach)

Examinatrices :

Mme BENHADJA. L

Professeur (A.T.R.B.S.A Constantine)

Mme HADJ ZIANE. A

Professeur (U.S.D Blida)

Année universitaire : 2019-2020

REMERCIEMENTS

Mes sincères remerciements s'adressent à mon directeur de thèse A. BITAM pour sa patience, son dévouement, sa disponibilité et son attention constante portée à la réalisation de ce travail.

À Monsieur L. MEKIMENE qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse. Sincères remerciements.

Mes vifs remerciements et mes respectueux hommages à mon jury de thèse :

Mme L. BOUTEKRABT née BENHADJA ainsi que Mme A. HADJ ZYANE qui nous font l'honneur d'accepter d'examiner ce travail. Sincères remerciements.

J'exprime aussi mes très sincères remerciements à mon père Abdelkader qui a veillé pour que je devienne ce que je suis, à ma mère H. BOUSDIRA qui a toujours su m'encourager. Mes profonds respects et remerciements à ma femme W. ALLOUACHE qui m'a beaucoup aidé et m'a soutenue durant ces longues années d'études ; ainsi que toute ma famille que je ne peux citer en entier mais qui chaque membre saura se reconnaître...

Un grand merci à mes anciens collègues du Centre National de Recherche en Biotechnologie de Constantine qui ont participé à la réalisation de ce travail particulièrement à Mr C. BENSOUISSI, Mr T. MOUSSAOUI, Mr I. KASHI et Mr A. SELMANIA. Sincères remerciements.

Au Dr A. BELKADI du Centre de Recherche et de Développement de SAIDAL (Industrie pharmaceutique) qui m'a accueillie au sein de l'Animalerie du laboratoire Pharmacotoxicologie et ma soutenue avec sa précieuse aide durant l'expérimentation animale. Sincères remerciements.

Au Pr YARGUI du Centre Hospitalo-universitaire Mustapha Bacha d'Alger et Dr BOUZNEB de l'Institut Pasteur d'Alger qui m'ont ouvert les portes de leurs laboratoires d'analyses biochimiques. Sincères remerciements.

Je tiens également à remercier Mme Y. BENALI ainsi que ses collaborateurs du Laboratoire de Cytologie et de Pathologie Vétérinaire de l'Institut Pasteur d'Alger et Mr R. KEDOUR Technicien au Laboratoire d'Anapathologie à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire et qui m'ont énormément aidé à la réalisation de la partie histologique et particulièrement Dr BENALI. Mille merci.

Tous mes remerciements s'adressent également à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, à la réalisation de ce travail, veuillez trouver l'expression de ma sympathie et de ma profonde reconnaissance.

Dédicaces

Avec un grand plaisir moi BOUZAR Ahmed Chiheb je dédie ce travail qui a été réalisé avec beaucoup d'implication :

A mes parents que j'aime tant

A ma femme ainsi qu'à mes enfants que j'aime tant

A mon frère et à mes sœurs. Le succès et la joie soient toujours avec eux,

A toute ma famille, mes oncles, mes tantes et mes cousins

A mes amis Islem et Yaakoub ainsi qu'à tous mes amis.

A toute ma promotion et tous ceux qui me connaissent

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
CHAPITRE 1. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE PESTICIDES & SANTÉ HUMAINE	
1. Définition du pesticide	7
2. Historique de l'utilisation des pesticides dans le domaine de l'agriculture et leurs impacts sur la santé publique	7
3. Classification des pesticides	9
3.1 Classification des pesticides sur la base du mode d'action	10
3.2 Classification des pesticides sur la base des espèces nuisibles ciblées	11
3.3 Classification des pesticides sur la base de la composition chimique	11
3.4 Classification basée sur la toxicité des pesticides	15
4. Impacts de l'utilisation des pesticides dans l'agriculture	16
4.1. Les effets secondaires dus à l'utilisation des pesticides sur l'environnement et la santé publique	16
5. L'exposition aux pesticides	16
5.1. L'exposition humaine aux pesticides	16
6. Conséquences de l'exposition aux pesticides sur la santé	17
LA SPIRULINE	
1. Introduction	19
2. La spiruline	19
2.1 Composition de la spiruline	20
2.2 La spiruline dans le domaine pharmaceutique	20
3. Caractéristiques générales de la phycocyanine	21
3.1. Structure de la Phycocyanine	21
3.2. La phycocyanine dans le domaine pharmaceutique	24
LE JEÛNE	
1. Définition du jeûne	27
2. Homéostasie métabolique durant les phases d'alimentation	27
2.1. Homéostasie énergétique	27
2.2. Homéostasie hormonale et enzymatique	28
3. Réponses métaboliques adaptatives au jeûne	30
3.1. Réponses métaboliques adaptatives au jeûne intermittent et au jeûne prolongé	30
3.2. Réponses métaboliques adaptatives à la famine	35
4. Les vertus du jeûne	37
PROBLÉMATIQUE	39
CHAPITRE 2 : MATÉRIELS & MÉTHODES	
I. Lieux et durées de stages	42
II. Produits chimiques & matériel végétal	43
III. Extraction et purification de la phycocyanine	43
III. 1. Extraction	43
III. 2. Purification	43
III. 3. Détermination de la pureté de la C-phycocyanine :	44
III. 4. Estimation des phycobiliprotéines	45
IV. Evaluation de l'activité biologique des extraits de phycocyanine	46

IV. 1. Les antioxydants standards	46
IV. 1.1. Les activités antioxydantes	47
IV.1.1.1. Test du 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	48
IV.1.1.2. Test de Blanchissement du Béta-carotène	51
IV.1.1.3. Test de chélation des ions métalliques	52
V. Expérimentation animale	54
V.1. Régimes alimentaires	54
VI. Collecte de sang et analyses biochimiques	57
VII. Collecte d'organes	57
VII.1. Préparation tissulaire et examen histopathologique	58
VIII. Analyses statistiques et traitement de données	60
CHAPITRE 3 : RESULTATS & DISCUSSION	
I. Détermination de la pureté de la C-phycoyanine	62
II. Estimation des phycobiliprotéines	62
III. Evaluation de l'activité biologique des extraits de la phycoyanine	62
III.1. Les activités antioxydantes	62
III.1.1. Dosage de l'activité antiradicalaire par le test DPPH	63
III.1.2. Test de Blanchissement de la Béta-carotène	64
III.1.3. Test de chélation des ions métalliques	71
IV. Expérimentation animale	73
IV.1. Effet de la phycoyanine et du jeûne sur le gain de poids les animaux traités par la déltamethrine	73
IV.2. Effet de la phycoyanine sur les animaux traités par la déltamethrine	76
IV. 2.1. Effet de la phycoyanine sur les marqueurs biochimiques	76
IV. 2.2. Effet de la phycoyanine sur l'histologie de quelques organes vitaux	78
IV. 2.2.1. Effets hépato-protecteurs de la phycoyanine chez le rat traité par la DLM	78
IV. 2.2.2. Effets néphroprotecteurs de la phycoyanine chez le rat traité par la DLM	80
IV. 2.2.3. Effets cardioprotecteurs de la phycoyanine chez le rat traité par la DLM	82
IV.3. Effet du jeûne sur les animaux traités par la déltamethrine	84
IV.3.1. Effet du jeûne sur les marqueurs biochimiques	84
IV.3.2. Effet du jeûne sur l'histologie de quelques organes vitaux	87
IV.3.2.1. Effets hépato-protecteurs du jeûne chez le rat traité par la DLM	87
IV.3.2.2. Effets néphroprotecteurs du jeûne chez le rat traité par la DLM	90
IV.3.2.3. Effets cardio-protecteurs du jeûne chez le rat traité par la DLM	92
CONCLUSION & PERSPECTIVES	100
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	106
ANNEXE	121

LISTES DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1 : Classification des pesticides en fonction des modes de pénétration et de la composition chimique	10
Figure 2.1 : structure du phycobilisome (PBS)	22
Figure 2.2 : structure de la phycocyanine	23
Figure 2.3 : Structure chimique de la phycocyanobiline (PCB), de la biliverdine et de la bilirubine	24
Figure 3.1 : Rôles pivots des systèmes nerveux et endocrinien en tant que médiateurs des réponses adaptatives des principaux systèmes d'organes au jeûne intermittent	31
Figure 3.2 : Description des voies du métabolisme central du carbone du foie qui produisent du glucose en décomposant le glycogène (glycogénolyse) et par la gluconéogenèse du glycérol, du lactate et des acides aminés pendant le jeûne	32
Figure 3.3 : Schéma global du métabolisme du carburant durant la famine	34
Figure 3.4 : Aperçu simplifié des adaptations hormonales et métaboliques pendant la privation alimentaire	36
Figure 4.1 : Photographie du surnageant contenant de la phycocyanine	44
Figure 4.2 : Déshydratation partielle de la phycocyanine à l'aide d'un rota-vapeur	45
Figure 4.3 : Lyophilisation du surnageant partiellement déshydraté	46
Figure 4.4 : Quelques antioxydants synthétiques	47
Figure 4.5 : Mécanisme de la réaction de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) avec un antioxydant	49
Figure 4.6 : Chélation des ions métalliques	53
Figure 4.7 : Déroulement de l'expérimentation	56
Figure 4.8 : Dissection des rattes à la fin de la période expérimentale	58
Figure 5.1 : Deux extraits de phycocyanine de pureté différente	63
Figure 5.2 : Courbe de pourcentage d'inhibition du DPPH par deux extraits de spiruline	64
Figure 5.3 : Schéma de la plaque de dosage de l'activité anti radicalaire (DPPH)	65
Figure 5.4 : Suivie de la cinétique des différents échantillons testés	68

Figure 5.5: Schéma de la plaque de dosage de l'activité anti radicalaire (Test de blanchiment du β -Carotène)	69
Figure 5.6 : Suivie de la cinétique des pourcentages d'initions des extraits en fonction de leurs concentrations dans le milieu réactionnel	70
Figure 5.7 : Suivie de la cinétique des pourcentages d'initiation des extraits en fonction de leurs concentrations dans le milieu réactionnel	72
Figure 5.8: a : granulés standards, b : granulés enrichis avec de la PC	73
Figure 5.9: Effets de la dèltamethrine, de la phycocyanine et du jeûne sur le poids corporel du rat	75
Figure 5.10: Comparaison des concentrations de l'ASAT sérique (UI/L) chez les groupes de rats femelles traitées avec le régime PC, DLM et DLM/PC et le groupe témoin	77
Figure 5.11 : Comparaison des concentrations des protéines sériques totales (g/L) chez les groupes de rats femelles traitées avec le régime PC, DLM et DLM/PC et le groupe témoin	78
Figure 5.12: Effets de la phycocyanine sur l'hépatotoxicité causée par la DLM	79
Figure 5.13: Effets de la phycocyanine sur la néphrotoxicité causée par la DLM	81
Figure 5.14: Effets de la phycocyanine sur la cardiotoxicité causée par la DLM	83
Figure 5.15 : Comparaison des concentrations de l'ASAT sérique (UI/L) chez les groupes de rats femelles traitées avec le régime JN, DLM et DLM/JN et le groupe témoin	85
Figure 5.16 : Comparaison des concentrations de l'ALAT sérique (UI/L) chez les groupes de rats femelles traitées avec le régime JN, DLM et DLM/JN et le groupe témoin	86
Figure 5.17 : Comparaison des concentrations des protéines sériques totales (g/L) chez les groupes de rats femelles traitées avec le régime JN, DLM et DLM/JN et le groupe témoin	87
Figure 5.18 : Effets du jeûne sur l'hépatotoxicité causée par la DLM	89
Figure 5.19 : Effets du jeûne sur la néphrotoxicité causée par la DLM	91
Figure 5.20: Effets du jeûne sur la cardiotoxicité causée par la DLM	93
Tableau 1.1 Classification des pesticides en fonction des cibles affectées	11
Tableau 1.2 Classification des pesticides basée sur leur toxicité	15
Tableau 4.1 : Série de dilutions et concentration respectives de l'extrait 1 de la phycocyanine	50
Tableau 5.1. Effet de la DLM de la PC et du jeûne sur l'évolution pondérale des rats durant la période expérimentale	74
Tableau 5.2. Effet de la DLM et / ou de la PC sur le taux des transaminases sériques et des protéines totales chez le rat	76
Tableau 5.3. Effet de la DLM et / ou du jeûne sur quelques marqueurs sériques chez le rat	84

Résumé

La présente étude met en évidence les altérations histopathologiques du foie, des reins et du cœur de rats femelles exposées à une faible dose de déltametrine (DLM), les potentiels effets hépatoprotecteurs, néphroprotecteurs et cardioprotecteurs de la phycocyanine et du jeûne. *In vitro* la phycocyanine de qualité alimentaire (pureté $\approx 0,15 \leq 0,7$) a eu une activité antioxydante modérée avec un pourcentage d'inhibition du radical DPPH de 38,94%, une capacité antiradicalaire dans le test du blanchiment du β -Carotène de 63,14% d'inhibition, et un pourcentage de chélation des ions métalliques qui est de 45,12 % en comparaison avec leurs témoins qui dépassaient 85% d'activité. *In vivo*, 36 rats femelles *Albinos Wistar* divisées en six groupes comme suit : Lot Témoin a reçu un régime à base de granulés standard ; Lot (PC) traité avec un régime standard enrichi avec $3,6 \pm 0,1$ mg de phycocyanine par kg de granulés ; Lot (DLM) traité avec un régime standard combiné avec la DLM dans l'eau à concentration de 1,28 mg par kg de poids corporel et par jour ; Lot (JN) traité avec un régime standard après un jeûne de 18 heures quotidiennement ; Lot restant (DLM/PC) a été traité par la combinaison du régime DLM et PC ; Le lot restant (DLM/JN) a reçu le même traitement que celui du groupe DLM mais soumis à un jeûne. La toxicité de la DLM a été révélée par une augmentation du biomarqueur ASAT dans le sang, l'abaissement des protéines totales sérique, par la dégénérescence hépatocytaire et l'apparition d'inflammation au niveau du foie, une dégénérescence épithéliale tubulaire, une hyperplasie des cellules mésangiales et une rétraction glomérulaire multifocale au niveau des reins, des microhémorragies interstitielles, ainsi qu'une dégénérescence des fibres musculaires cardiaques. L'association (DLM/PC) a révélé un effet protecteur de la phycocyanine caractérisé par la réduction de la concentration de l'ASAT sérique et l'importante diminution des lésions au niveau des tissus étudiés, par contre l'association (DLM/JN) a eu très peu d'effets significatifs contre la toxicité causée par la

déltaméthrine. Il apparaît donc que la PC possède une action protectrice vis-à-vis des effets toxiques de la DLM.

Mots clés : Déltaméthrine, Phycocyanine, jeûne, hépatoprotecteur, néphroprotecteur, cardioprotecteur.

Abstract

The study highlights the histopathological alterations of the liver, kidney and heart of female rats exposed to a low dose of deltamethrin (DLM), the potential hepatoprotective, nephroprotective and cardioprotective effects of phycocyanin and fasting. *In vitro*, food grade phycocyanin (purity $\approx 0.15 \leq 0.7$) had a better antioxidant activity with a percentage of DPPH radical inhibition of 38,94%, an anti-free radical capacity in the β -Carotene bleaching test of 63.14% inhibition, and a percentage of metal ion chelation which is 45,12% compared to their controls which exceeded 85% activity. *In vivo*, 36 female Albino Wistar rats divided into four groups as follows: Control group received a diet based on standard granules; group (PC) treated with a standard diet enriched with $3,6 \pm 0.1$ mg of phycocyanin per kg of granules, group (JN) treated with a standard diet after an 18-hour fast daily; group (DLM) treated with a standard diet combined with DLM in water at a concentration of 1,28 mg per kg body weight per day; group (DLM / PC) was processed by the combination of the DLM and PC scheme, the remaining group (DLM / JN) received the same treatment as that of the DLM group but subjected to fasting. The toxicity of DLM was revealed by an increase in the ASAT biomarker in the blood, by hepatocyte degeneration and onset of acute inflammation in the liver, tubular epithelial degeneration, mesangial cell hyperplasia, and multifocal glomerular retraction, cardiac interstitial microhemorrhages, and degeneration of the cardiac muscle fibers. The association (DLM / PC) revealed a protective effect of phycocyanin due as shown by the reduction of the concentration of serum ASAT and the important decrease of lesions in the tissues studied, however, the combination (DLM / JN) had very little significant effect against the toxicity caused by deltamethrin. It therefore appears that PC has a protective action against the toxic effects of DLM.

Keywords : Deltamethrin, Phycocyanin, fasting, hepatoprotective, nephroprotective, cardioprotective.

ملخص

تسلط هذه الدراسة الضوء على التغييرات النسيجية المرضية للكبد والكلية والقلب لدى إناث الجرذان المعرضة لجرعة منخفضة من الدلتا ميترين (DLM) ، والتأثيرات المحتملة للفيكوسيانين والصيام في الحماية من أمراض الكبد والكلية والوقاية منها. في المختبر، أظهر الفيكوسيانين بجودة غذائية (نقاء $\approx 0.15 \geq 0.7$) نشاطاً معتدلاً مضاداً للأكسدة مع نسبة مئوية لتنشيط جزيئة DPPH تقدر بـ 38.94 %، وقدرة مضادة للجزيئات المؤكسدة الحرة في اختبار تحويل البيتا كاروتين بنسبة تنشيط تقدر بـ 63.14 % ونسبة 45.12 % من عملية تعقيد المعادن بالمقارنة مع الشواهد التي تجاوزت نسبة فعاليتها 85 %.

تم تقسيم 36 أنثى من جرذان Wistar Albino إلى ست مجموعات على النحو التالي:

المجموعة الأولى (الشاهد): تم تزويد هذه المجموعة بنظام غذائي معياري من الحبوب؛ **مجموعة (PC):** تم معالجتها بنظام غذائي مزود بـ 0.1 ± 3.6 مع من الفيكوسيانين لكل كيلو غرام من الحبوب؛ **مجموعة (DLM):** تمت معالجتها بنظام غذائي معياري بإضافة المبيد DLM في الماء بتركيز 1.28 مغ لكل كيلوجرام من وزن الجسم يوميًا؛ وأما **المجموعة (JN):** فإنها تتعرض لنظام غذائي معياري بعد 18 ساعة من الصيام يوميًا؛ تمت معالجة المجموعة (DLM / PC) عن طريق الجمع بين DLM والنظام الغذائي المزود بالفيكوسيانين ؛ كما تلقت المجموعة المتبقية (DLM / JN) نفس المعاملة التي تلقتها مجموعة DLM ولكنها خضعت للصيام.

تم الكشف عن تأثير DLM السُمي من خلال زيادة المرقم الحيوي ASAT في الدم، وانخفاض إجمالي لبروتينات المصل، وبتنكس خلايا الكبد كما ظهرت فيها التهابات، وبتنكس ظهاري أنبوبي، وتضخم في خلايا ميسانجيل (الخلايا الكبية) والتراجع الكببي متعدد البؤر في الكلية، ونزيف داخلي، وكذلك تنكس ألياف عضلة القلب.

أظهر الجمع بين (DLM / PC) تأثيرًا وقائيًا للفيكوسيانين يتميز بانخفاض تركيز ASAT في مصل الدم وانخفاض محسوس في الآفات على مستوى الأنسجة المدروسة، ومن ناحية أخرى فإن الارتباط بين (DLM / JN) كان له تأثير لكن ضئيل للغاية ضد السم الذي يسببه الدلتا ميترين. لذلك يبدو أن الفيكوسيانين له تأثير وقائي ضد سم المبيد DLM .

كلمات المفتاح

الدالتامترين، الفيكوسيانين، الصيام، حماية الكبد، حماية الكلية، حماية القلب.

INTRODUCTION

Introduction :

Les cyanobactéries sont des procaryotes uniques capables de réaliser la photosynthèse. Dans ces organismes, les phycobilisomes (PBS) agissent comme une antenne de l'appareil photosynthétique pigmenté. Ces dernières composées de plusieurs phycobiliprotéines (PBP) dont : les phycoérythrine (PE), les phycocyanine (PC), les allophycocyanine (APC) et les phycoérythrocyanine (PEC) (**Diyana et al.**, 2018). La phycocyanine est l'un des principaux pigments de l'algue (cyanobactérie) spiruline (**Usharani et al.**, 2012 ; **Fernández-Rojas et al.**, 2014a). La PC est composée d'une protéine et d'un composant non protéique connu sous le nom de phycocyanobiline (PCB), cette dernière est de structure similaire à celle de la bilirubine et de la biliverdine, de forme tétrapyrrole à chaîne ouverte elle est à l'origine de la couleur bleue intense caractéristique de la phycocyanine (**Fernández-Rojas et al.**, 2014). Puissant antioxydant, la phycocyanine est capable de piéger plusieurs radicaux tels que les radicaux hydroxyles, les radicaux peroxydes, l'oxygène singulet, les anions superoxydes, et peroxyde d'hydrogène. (**Kuddus et al.**, 2013 ; **Nuhu.**, 2013 ; **Fernández-Rojas et al.**, 2014a). Elle stimule l'immunité et prévient les dommages oxydatifs ce qui pourrait expliquer en partie ses effets anti-tumoraux (**Kamble et al.**, 2013 ; **Liangqian et al.**, 2017), anti-inflammatoires (**Ghaeni & Roomiani.**, 2016 ; **Serban et al.**, 2016), hépatoprotecteur, cardio-protecteur, neuro-protecteur (**Fernández-Rojas et al.**, 2014a) et néphroprotecteurs (**Fernández-Rojas et al.**, 2014b). Considérée comme nutraceutique, son utilisation a rapidement augmenté au cours de ces dernières années dans le domaine de la biotechnologie et la pharmaceutique (**Moraes et al.**, 2011 ; **Diyana et al.**, 2018), largement utilisée dans l'industrie alimentaire et cosmétique en tant que colorant bleu naturel (**Kamble et al.**, 2013), et de par ses propriétés de fluorescence, la PC pure est utilisée comme marqueur en immunologie, en microscopie et en cytométrie (**Saranraj & Sivasakthi.**, 2014).

Les mammifères ont développé un système de réponse métabolique qui leur permet de survivre pendant de longues périodes de privation en énergie. Une caractéristique importante est le passage progressif de l'utilisation des carburants dans l'ensemble du corps, qui passe des glucides et des lipides à l'état nourri à presque exclusivement des lipides après une journée de jeûne (**Kersten et al.**, 1999), suivie de l'atrophie de nombreux tissus et organes pour minimiser la dépense énergétique (**Cheng et al.**, 2017). Actuellement, un grand intérêt est porté pour le rôle de la nutrition dans la prévention des troubles liés à l'âge, au stress oxydatif, et aux stress causés par les traitements médicamenteux ou par des xénobiotiques d'une manière générale (**Lee et al.**, 2012). Plusieurs études suggèrent que le jeûne ou les régimes alimentaires imitant le jeûne pourraient atténuer et/ou remédier aux effets secondaires d'une variété de médicaments (**Lee et al.**, 2012). Le jeûne est aussi connu pour son effet antioxydant bénéfique et sa modulation du stress oxydatif associé au vieillissement et aux médicaments (**Descamps et al.**, 2005, **Lee et al.**, 2012). Il est utilisé dans le traitement des maladies auto-immunes (**Choi et al.**, 2016), le diabète et maladies cardiovasculaires (**Wei et al.**, 2017), et favorise la perte de poids ainsi que la diminution de la tension artérielle (**Gabel et al.**, 2018, **Mojto et al.**, 2018). Il intervient dans l'amélioration des effets de la thérapie, en augmentant la résistance à la chimiothérapie chez les cellules normales non cancéreuses et favorise la régénération des tissus normaux (**de Groot et al.**, 2015 ; **Lo Re et al.**, 2017, **Nencioni et al.**, 2018, **Bauersfeld et al.**, 2018). Le jeûne s'inscrit dans de nouvelles approches thérapeutiques pour la prévention et le traitement de certains types de tumeurs (**Lu et al.**, 2016 ; **Lo Re et al.**, 2017 ; **Nencioni et al.**, 2018 ; **Bauersfeld et al.**, 2018), car combiné à la chimiothérapie, immunothérapie ou autres traitements. Ainsi le jeûne devient un allié qui s'inscrit dans une stratégie potentiellement prometteuse pour augmenter l'efficacité du traitement, prévenir l'acquisition d'une résistance et réduire les effets secondaires (**Nencioni et al.**, 2018).

L'utilisation intensive des pesticides s'accompagne d'impacts environnementaux et humains avec des niveaux élevés d'insuffisance hépatique, rénale, stérilité, cancer, immunosuppression et maladies neurologiques (**Abdel-Daim et al.**, 2016). Parmi les pesticides, on trouve les insecticides pyréthrinoïdes, qui sont les dérivés synthétiques des pyréthrines naturelles obtenues à partir de fleurs de pyrèthre (**Desai et al.**, 2016), devenues par la suite les principaux substituts des organophosphorés (**Abdelkhalek et al.**, 2014).

La deltaméthrine (DLM), est un pyréthrinoïde de synthèse de type II à large spectre (**Abdel-Daim et al.**, 2016), de formule chimique [α -cyano-3-phenoxybenzyl-(1R, S)-Cis, trans-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2dimethylcyclopropanecarboxylate] (**Chargui et al.**, 2012), largement utilisée dans le domaine agricole pour protéger les légumes, les fruits, aussi utilisée contre les parasites tels que les acariens, les fourmis, les coléoptères et les charançons (**Dubey et al.**, 2013 ; **Abdel-Daim et al.**, 2016). Dans la pratique vétérinaire, la DLM est employée en tant qu'ectoparasiticide contre les acariens, les mouches, les tiques et les puces afin de lutter contre les maladies à transmission vectorielle (**Mehlhorn et al.**, 2011). La DLM est devenue un insecticide de choix dans la plupart des pays en raison de sa grande puissance contre un grand nombre d'organismes nuisibles et de sa dégradation rapide (**Chargui et al.**, 2012). Les oiseaux, les animaux et les êtres humains vivant dans un même écosystème sont directement ou indirectement exposés au risque que présente la DLM (**Abdel-Daim & El-Ghoneimy.**, 2015). Un certain nombre d'études sur les effets secondaires de cet insecticide a été signalé, y compris l'hépatotoxicité et neurotoxicité (**Abdel-Daim et al.**, 2016), néphrotoxicité (**Chandra et al.**, 2013), des anomalies cardiovasculaires (**De la Cerda et al.**, 2002), immunosuppression (**Rehman et al.**, 2011) et des effets secondaires sur la reproduction (**Desai et al.**, 2016).

Récemment, plusieurs publications ont fait l'objet d'études *in vivo* sur le rôle protecteur de la spiruline vis-à-vis des effets toxiques causés par le DLM (**Abdel-Daim et al.**, 2013 ;

Abdelkhalek et al., 2014 ; **Abdel-Daim et al.**, 2016). Nous supposons que la phycocyanine, puissant antioxydant de la spiruline, pourrait être à l'origine des effets protecteurs de cette dernière.

Le but de notre travail est de mettre en évidence les effets protecteurs que pourrait avoir la phycocyanine extraite de la spiruline d'une part et les effets soupçonnés du jeûne sur la stimulation des défenses du rat traité par la DLM d'autre part.

Pour se faire nous avons organisé notre travail en trois parties.

Une partie bibliographique, divisée en trois chapitres, le premier porte sur les produits phytosanitaires utilisés en agriculture, leurs caractéristiques phytopharmaceutiques et toxicologiques. Le deuxième chapitre s'intéresse aux cyanobactéries plus précisément la spiruline, sa composition, puis on met l'accent sur sa richesse en pigment bleu (phycocyanine), les caractéristiques de cette dernière ainsi que son utilisation dans le domaine pharmaceutique. Le troisième chapitre aborde le jeûne, sa définition, ses effets sur la physiologie et sur la santé humaine.

La deuxième partie de notre travail comporte la phase *in vitro*, qui traite l'extraction de la phycocyanine à partir de la spiruline en provenance de Tamanrasset, ainsi que l'évaluation de son activité biologique (activité anti-oxydante), puis une seconde phase, *in vivo*, où des rats sont exposés à une toxicité subaiguë à la DLM afin de mettre en exergue les effets toxiques de la DLM, d'autres lots sont soumis au jeûne intermittent et à un régime enrichi en phycocyanine afin d'apprécier leurs éventuels effets protecteurs contre la DLM.

Enfin dans la dernière partie, nous avons exposé les résultats de notre travail. Ce travail a fait l'objet de deux communications internationales et une publication qui sont exposées en annexe.

CHAPITRE 1 :
SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

PESTICIDE ET
SANTÉ HUMAINE

1. Définition du pesticide

Selon la FAO (1989), un pesticide est une substance ou un mélange de substances destiné à prévenir, détruire ou contrôler tout ravageur, y compris les vecteurs de maladies humaines ou animales. Les espèces de plantes ou d'animaux indésirables causant des dommages pendant ou interférant d'une autre manière avec la production, la transformation, le stockage ou la commercialisation de denrées alimentaires, de produits agricoles, de bois et de produits du bois ou d'aliments pour animaux, ou qui peuvent être administrés à des animaux pour lutter contre les insectes, les arachnides ou d'autres parasites dans ou sur leur corps. Le terme comprend les produits chimiques utilisés comme régulateurs de croissance, les défoliants, les dessiccants, les agents d'éclaircissage des fruits ou les agents pour empêcher la chute prématurée des fruits, et les substances appliquées aux cultures avant ou après la récolte pour éviter leur détérioration pendant le stockage ou le transport. Le terme exclut toutefois les produits chimiques utilisés comme engrais, nutriments pour les végétaux et animaux, additifs alimentaires et médicaments pour animaux. Le terme pesticide est également défini par la FAO en collaboration avec le PNUE (United Nations Environment Programme) (1990) comme des produits chimiques conçus pour lutter contre les attaques de divers ravageurs et vecteurs sur les cultures agricoles, les animaux domestiques et les êtres humains. Les définitions ci-dessus impliquent que les pesticides sont des agents chimiques toxiques (principalement des composés organiques) qui sont délibérément relâchés dans l'environnement pour lutter contre les ravageurs des cultures et les vecteurs de maladies (Zacharia., 2011).

2. Historique de l'utilisation des pesticides dans le domaine de l'agriculture et leurs impacts sur la santé publique

Les pesticides sont presque aussi vieux que l'agriculture elle-même (Graham., 2019). Cependant, l'utilisation de pesticides modernes dans l'agriculture et la santé publique remonte au 19^e siècle. La première génération de pesticides impliquait l'utilisation de composés

hautement toxiques, l'arsenic (arséniate de calcium et arséniate de plomb) et un fumigant cyanure d'hydrogène dans les années 1860 pour lutter contre des parasites comme les champignons, les insectes et les bactéries. Les autres composés comprennent la bouillie bordelaise (sulfate de cuivre, chaux et eau) et le soufre. Leur utilisation a été abandonnée en raison de leur toxicité et de leur inefficacité. La deuxième génération a impliqué l'utilisation de composés organiques synthétiques (**Zacharia., 2011**). L'émergence de composés chlorés comme pesticides a été annoncée par la synthèse du dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) en 1874 et la reconnaissance ultérieure, par Paul Müller en 1939, de ses propriétés insecticides (pour lesquelles Müller a reçu un prix Nobel) (**Deadman., 2017**). Après avoir été utilisé de manière significative en agriculture contre les ravageurs, il a également été utilisé par des civils et des soldats pour lutter contre le paludisme, la peste et le typhus (**Bharti et al., 2019**). À ses débuts, le DDT a été salué comme l'insecticide qui résout tous les problèmes d'insectes (**Fishel., 2009**). L'utilisation du DDT dans l'agriculture a augmenté de façon spectaculaire, un âge de dominance des organochlorés a été établi et qui a duré jusqu'aux années 1970. Après le succès du DDT, l'introduction d'innombrables pesticides organiques synthétiques a suivi (**Zacharia., 2011**). Après cela, les insecticides organophosphorés et carbamates ont commencé à remplacer les composés chlorés, qui ont été identifiés pour les dommages environnementaux de plus en plus graves (**Deadman., 2017**). Ces produits synthétiques ont lancé l'industrie chimique moderne, une nouvelle ère dans la lutte antiparasitaire est née (**Fishel., 2009**) pour faire de cette époque ce que Rachel Carson (1962) dans son livre "The Silent Spring" a décrit comme l'ère de la "pluie de produits chimiques " (**Zacharia., 2011**).

L'utilisation intensive de pesticides dans l'agriculture est également bien connue pour être associée à la « révolution verte » (**Zacharia., 2011**). Cette dernière a commencé en 1944 lorsque la Fondation Rockefeller a fondé un institut pour améliorer la production agricole des fermes mexicaines. L'objectif de cette révolution était d'augmenter l'efficacité des processus agricoles

de façon à accroître la productivité des cultures et à aider les pays en développement à faire face à leurs besoins croissants de la population. La croissance des rendements des cultures a été telle que l'agriculture était désormais en mesure de dépasser la croissance démographique après 1950 (Ameen & Raza., 2017).

La révolution verte a impliqué trois principaux aspects des pratiques agricoles, parmi lesquelles l'utilisation des pesticides faisait partie intégrante. Suite à son succès au Mexique, la révolution verte s'est répandue dans le monde (Zacharia., 2011).

3. Classification des pesticides

Le mot « pesticide » est un terme générique pour tous les insecticides, herbicides, fongicides, rodenticides, les produits de préservation du bois, les produits chimiques de jardin et désinfectants ménagers qui peuvent-être utilisés pour tuer certains parasites. Les pesticides synthétiques sont classés de différentes façons selon le besoin. Cependant, il y a trois façons, les plus populaires pour classier les pesticides et qui sont ; la classification basée sur le mode d'action, la classification basée sur les espèces nuisibles ciblées et la classification en fonction de la composition chimique des pesticides (Zacharia., 2011). Selon Drum (1980), la méthode la plus pratique et la plus accessible pour classer les pesticides est basée sur le mode de pénétration et la composition chimique. Il existe plusieurs façons pour que les pesticides pénètrent dans les organismes cibles tels que les poisons gastriques systémiques, non systémiques, les fumigants et les répulsifs. En outre, la compréhension de la nature des ingrédients actifs, y compris leur efficacité, leurs propriétés physiques et chimiques, sont essentielles pour regrouper les pesticides en fonction de leur composition chimique. Il existe quatre principaux groupes de pesticides désignés par leur composition chimique, notamment les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates ainsi que les pyréthroïdes synthétiques. Le résumé de la classification des pesticides en fonction des modes de pénétration et de la composition chimique est présenté à la Figure 1.1 qui suit (Sulaiman *et al.*, 2019).

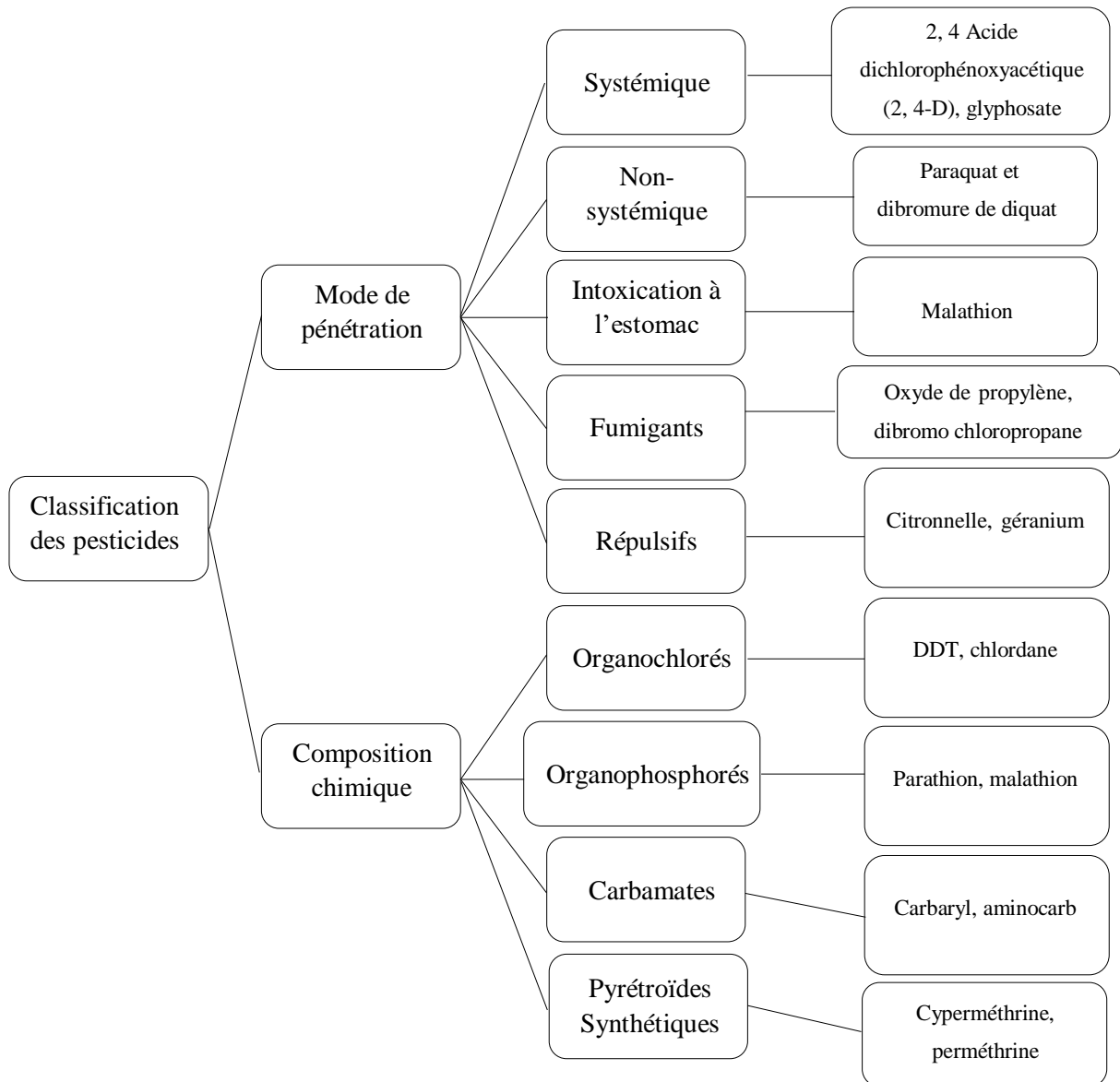


Figure 1.1 : Classification des pesticides en fonction des modes de pénétration et de la composition chimique (Sulaiman *et al.*, 2019).

3.1 Classification des pesticides sur la base du mode d'action

Dans ce type de classification, les pesticides sont classés en fonction de la manière dont ils agissent pour obtenir l'effet désiré. De cette façon, les pesticides sont classés comme pesticides de contact (non systémiques) et systémiques. Les pesticides non systémiques sont ceux qui ne pénètrent pas de manière appréciable les tissus végétaux, et par conséquent ne sont pas transportés dans le système vasculaire de la plante. Ce type de pesticides ne donne l'effet désiré

que quand ils entrent en contact avec le ravageur ciblé, d'où le nom de pesticides de contact. Des exemples de pesticides de contact sont le paraquat et le diquat dibromure. D'autre part, les pesticides systémiques sont ceux qui pénètrent efficacement les tissus végétaux et se déplacent à travers le système vasculaire de la plante afin d'obtenir l'effet désiré (Zacharia., 2011).

3.2 Classification des pesticides sur la base des espèces nuisibles ciblées

Dans ce type de classification, les pesticides sont classés en fonction du nuisible ciblé, comme indiqué dans le tableau 1.1 qui suit :

Tableau 1.1 Classification des pesticides en fonction des cibles affectées (Ashitha & Mathew., 2019).

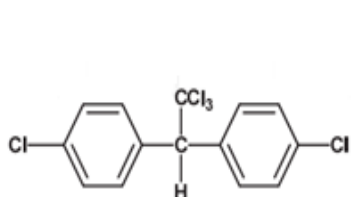
Type de pesticide	Organisme ciblé / parasite
Bactéricide	Bactérie
Défoliant	Feuillage des cultures
Déshydratant	Promouvoir le séchage des cultures comme aide à la récolte
Insecticide	Insectes
Herbicide	Les plantes
Rodenticide	Rongeurs
Fongicide	champignon
Acaricide	Acarien
Protecteur incorporé aux plantes (PIP)	Manifestation transgénique pour une protéine insecticide
Molluscicide	Limaces et escargots
Nématicide	Nématodes
Régulateur de croissance des plantes	Processus de croissance des plantes cultivées
Agent de conservation du bois	Organismes destructeurs du bois

3.3 Classification des pesticides sur la base de la composition chimique

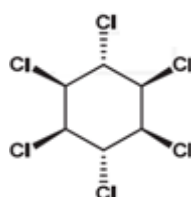
Sur la base de la composition chimique, les pesticides sont classés en quatre groupes principaux à savoir : organochlorés, organophosphorés, carbamates et pyréthrine et pyréthroïdes. La

classification chimique des pesticides est assez complexe. En général, les pesticides modernes sont des produits chimiques organiques. Ils comprennent des pesticides d'origine synthétique ou végétale. Cependant, certains composés inorganiques sont également utilisés comme pesticides (Kaur *et al.*, 2019).

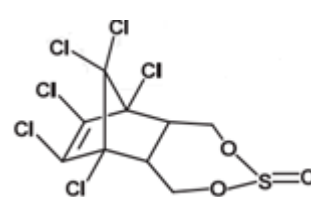
Les pesticides organochlorés largement utilisés depuis la seconde guerre mondiale en temps qu'insecticides, fongicides et herbicides. Cette classe comprend des produits chimiques tels que le DDT, le dichlorodiphényldichloroéthylène (DDE) et le dichlorodiphényldichloroéthane (DDD) ; le méthoxychlore, dieldrine, toxaphène, lindane, endosulfan, entre autre. Leurs structures sont assez distinctes, le seul point commun est la présence de groupes chlorés. Les pesticides organochlorés sont très lipophiles et résistent à la dégradation microbienne et sont donc persistants dans l'environnement (Martynuik *et al.*, 2020) ; en conséquence, ces pesticides sont devenus un problème environnemental majeur. En outre, ces composés sont connus pour avoir des effets néfastes sur les espèces non ciblées et, par conséquent, le DDT, le chlordane, la dieldrine et l'heptachlore ont été interdits dans les pays développés (Krieger *et al.*, 2010).



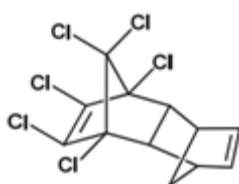
P, p'-DDT



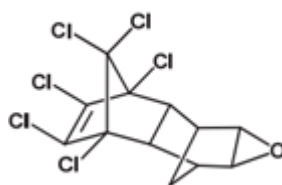
Lindane



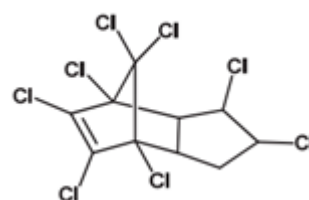
Endosulfan



Aldrine



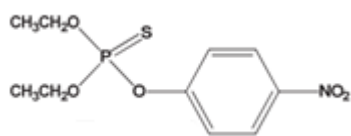
Dieldrin



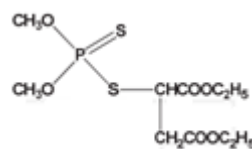
Chlordane

Les insecticides organophosphorés sont considérés comme un groupe à large spectre qui agissent sur une large gamme d'organismes nuisibles en raison de leurs fonctions multiples. Ils sont considérés comme étant un poison gastrique, un poison de contact ainsi qu'un poison fumigant causant une toxicité du système nerveux. Ces pesticides sont également biodégradables, ils provoquent une pollution environnementale minimale. Les insecticides organophosphorés sont plus toxiques pour les vertébrés et les invertébrés en tant qu'inhibiteurs de la cholinestérase, entraînant une superposition permanente du neurotransmetteur acétylcholine à travers une synapse. En conséquence, les impulsions nerveuses ne se déplacent pas à travers la synapse, provoquant une contraction rapide des muscles volontaires, conduisant ainsi à la paralysie et à la mort (**Kaur *et al.*, 2019**).

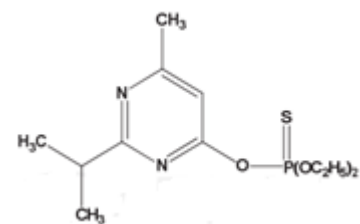
Parmi les insecticides organophosphorés largement utilisés notons le parathion, le malathion, diazinon et glyphosate dont la structure chimique est illustrée ci-dessous (**Zacharia., 2011**).



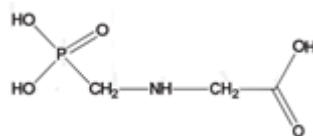
Parathion



Malathion



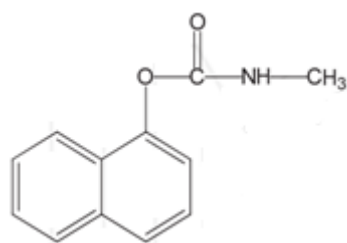
Diazinon



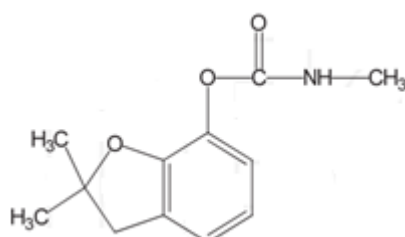
Glyphosate

Les carbamates sont similaires aux organophosphates. Cependant, ils diffèrent par leur origine. Les organophosphates sont des dérivés de l'acide phosphorique, tandis que les carbamates sont des dérivés de l'acide carbamique. Le principe actif des pesticides carbamate est similaire à ceux des pesticides organophosphorés (en affectant la transmission des signaux

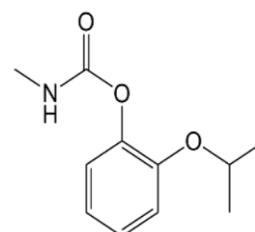
nerveux) entraînant la mort du ravageur par empoisonnement. Parfois, ils sont également utilisés comme poisons de contact, poison gastrique ainsi que comme fumigant. Ils peuvent être facilement dégradés dans un environnement naturel avec une pollution environnementale minimale. Certains des insecticides largement utilisés dans ce groupe comprennent le carbaryl, le carbofuran et le propoxur (**Kaur et al., 2019**).



Carbaryl



Carbofuran

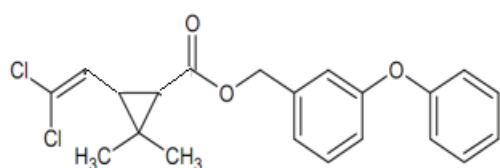


propoxur

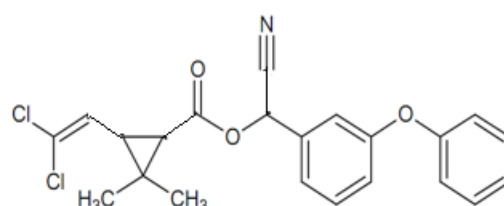
Les pyréthrinoïdes sont une grande famille d'analogues synthétiques des pyréthrines naturelles largement utilisées pour la lutte contre les insectes dans les produits agricoles et de nombreux produits de consommation. Collectivement, ils sont les deuxièmes insecticides les plus utilisés dans le monde (**Stellman & Stellman., 2019**).

La capacité des mammifères à métaboliser les pyréthroïdes a été considérée comme l'une des meilleures qualités de ces pesticides. La voie de métabolisation diffère selon l'organisme. Cependant, les voies sont équivalentes pour de nombreux mammifères (**Aznar-Alemany & Eljarrat., 2020**).

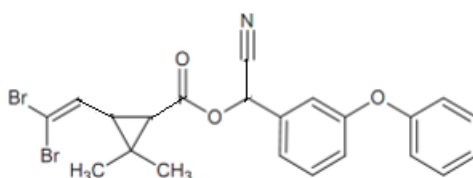
Parmi les pyréthrinoïdes utilisés nous avons la perméthrine, la cyperméthrine et la deltaméthrine de structure chimique comme illustré ci-dessous (**Aznar-Alemany & Eljarrat., 2020**).



Permethrine



Cypermethrine



Deltaméthrine

3.4 Classification basée sur la toxicité des pesticides

Cette classification est basée sur le degré de toxicité des pesticides comme illustré dans le tableau 1.2 qui suit :

Tableau 1.2 Classification des pesticides basée sur leur toxicité (Ashitha & Mathew., 2019).

Catégorie I	<p>Ces pesticides contiennent des indicateurs : « Danger / poison ».</p> <p>De plus, un symbole de crâne et d'os croisés est requis sur les étiquettes de tous les pesticides de catégorie I, qui sont décrits comme hautement toxiques. Ces pesticides ont une DL50 orale aiguë comprise entre 0 et 50 mg / kg.</p>
Catégorie II	<p>Contiennent le mot d'avertissement : « avertissement ».</p> <p>Les pesticides de cette catégorie sont décrits comme modérément toxiques et ont une DL50 orale aiguë comprise entre 50 et 500 mg / kg.</p>
Catégorie III	<p>Contiennent le mot d'avertissement : « Attention »</p> <p>Ce sont des pesticides légèrement toxiques avec une gamme de DL50 orale aiguë de 500 à 5 000 mg / kg.</p>
Catégorie IV	<p>Contiennent le mot d'avertissement : « Attention »</p> <p>Ce sont des pesticides à très faible toxicité qui ont une DL50 orale aiguë supérieure à 5000 mg / kg.</p>

4. Impacts de l'utilisation des pesticides dans l'agriculture

L'utilisation des pesticides a apporté de nombreux avantages à l'humanité dans le domaine agricole, industriel et sanitaire, mais leur toxicité a toujours été et reste une préoccupation (Mostafalou & Abdollahi., 2016).

4.1. Les effets secondaires dus à l'utilisation des pesticides sur l'environnement et la santé publique

Les pesticides représentent l'un des contaminants environnementaux les plus anciens et les plus utilisés (Richardson *et al.*, 2019).

Malgré leurs avantages, les pesticides peuvent être dangereux pour l'Homme et l'environnement. En 1962, dans son livre « Silent Spring », Rachel Carson mentionnait les problèmes pouvant résulter de l'utilisation aveugle de pesticides. Ce livre a suscité une inquiétude généralisée concernant l'impact des pesticides sur la santé humaine et de l'environnement. Dans les années 1970, la résistance des ravageurs est apparue, combinée à l'influence du livre « Silent Spring », à l'accumulation de preuves sur les effets des pesticides, en a été le résultat d'interdiction de l'utilisation du DDT aux États-Unis en 1972. Certains autres pesticides sont également écologiquement stables, sujet à la bioaccumulation, toxiques, persistant dans l'environnement, ils peuvent y rester pendant des années (Gyawali., 2018).

5. L'exposition aux pesticides

5.1. L'exposition humaine aux pesticides

L'exposition humaine aux pesticides peut se produire par différentes voies, y compris les professions liées à la production, au transport, livraison et à leur application. En résidant dans les lieux riches en résidus de pesticides ainsi que par la circulation et l'accumulation des pesticides dans la chaîne alimentaire. Les pesticides sont des produits chimiques toxiques pour les organismes vivants, leur toxicité pour l'Homme et les autres espèces animales est inévitable (Mostafalou & Abdollahi., 2016).

6. Conséquences de l'exposition aux pesticides sur la santé

Plusieurs effets délétères des pesticides sur la santé de l'Homme et sur son environnement ont été signalés dont :

➤ Un lien a été établi entre l'exposition aux pesticides et le dysfonctionnement de la reproduction entraînant une altération du cycle œstral, folliculogénèse, ovulation, endométriose, conceptions et avortements (**Bhardwaj *et al.*, 2018**).

➤ Des expositions aux pesticides sont associées à plusieurs neurotoxicités chez l'Homme (**Richardson *et al.*, 2019**).

➤ Des données épidémiologiques résumées dans le rapport de Inserm (l'Institut national français de la santé et de la recherche médicale) ont mis en évidence des liens entre certaines maladies chroniques et l'exposition professionnelle aux pesticides agricoles. Elle a notamment conclu qu'il y avait une forte probabilité que ces pesticides contribuent à l'apparition de plusieurs maladies neurologiques, et de certains cancers (cancer de la prostate, lymphome malin non hodgkinien, y compris multiple myélome) (**Garrigou *et al.*, 2020**), ainsi que la maladie de Parkinson (**Baldi *et al.*, 2017**).

➤ Des études épidémiologiques ont démontré une exposition environnementale aux pesticides avec un risque accru de cancer épithélial de l'ovaire (**Shah *et al.*, 2020**).

LA SPIRULINE

1. Introduction

Les cyanobactéries existent depuis environ 3,5 milliards d'années, elles font partie des plus anciennes créatures de la Terre (**Du et al.**, 2019). Les cyanobactéries sont les seuls organismes procaryotes connus qui peuvent effectuer la photosynthèse oxygénée permettant la synthèse de la biomasse à partir de matières premières bon marché et renouvelables telles que la lumière du soleil, l'eau et le CO₂ (**Hendry et al.**, 2020). Généralement appelées algues bleu-vert, ils partagent des caractéristiques avec des bactéries primitives car ils n'ont pas de paroi cellulaire végétale, et partagent également les caractéristiques du règne animal du fait qu'elles contiennent sur leur membrane cellulaire des sucres complexes similaires au glycogène (**Saranraj & Sivasakthi.**, 2014). Les cyanobactéries constituent un groupe intéressant d'algues photoautotrophes prospérant avec succès dans presque tous les habitats possibles et diversifiés sur Terre (**Tokodi et al.**, 2018 ; **Singh et al.**, 2019), A ce jour, plus de 270 genres de cyanobactéries avec plus de 3000 espèces ont été décrites. Dernièrement, les microalgues ont retenu une attention considérable en raison de leur taux de croissance élevé et de la variété de composés qui peuvent s'accumuler en grandes quantités comme les protéines, les lipides, les glucides, les caroténoïdes et les phycobiliprotéines (**Hsieh-Lo et al.**, 2019).

2. La spiruline

Spirulina sp., originaire des lagunes d'Afrique et d'Amérique latine est consommée depuis de nombreuses années par les Kanembous (Afrique) et les Indiens aztèques (Mexique) (**Costa et al.**, 2019). Elle a été utilisée comme nourriture pendant des siècles par différentes populations et n'a commencé à être étudiée que ces dernières années. Classée comme « algue bleu-vert », elle n'appartient pas à proprement parler aux algues, même si par commodité elle a été désignée ainsi. Elle pousse naturellement dans les eaux alcalines des lacs des régions

chaudes. Mesurant environ 0,1 mm de diamètre, elle prend généralement la forme de minuscules filaments verts enroulés en spirales de serrage et de nombre variables, en fonction de la déformation. Sa teneur en protéines impressionnante et sa croissance rapide dans des environnements entièrement minéraux ont attiré l'attention des chercheurs et des industriels (Saranraj & Sivasakthi., 2014).

2.1 Composition de la spiruline

La spiruline contient des quantités très élevées de protéines (entre 65 et 71% du poids sec) (Siva Kiran *et al.*, 2015), d'acides gras polyinsaturés (AGPI), y compris l'acide γ -linoléique (AAL), l'acide linoléique (AL), l'acide stéaridonique (ASD), l'acide eicosapentaénoïque (AEP), l'acide docosahexaénoïque (ADH) et l'acide arachidonique (AA). La spiruline est également riche en vitamines, notamment la thiamine, la riboflavine, la nicotinamide, la pyridoxine, la cyanocobalamine, la vitamine C, la vitamine D et la vitamine E. Elle contient quatre fois plus de vitamine B12 que le foie cru, qui était considéré comme la meilleure source de ce nutriment (Soni *et al.*, 2017). De nombreux pigments tels que la chlorophylle a, la xanthophylle, le bêta-carotène, l'échinénone, la myxoxanthophylle, la zéaxanthine, la canthaxanthine et la diatoxanthine platensis. Elle synthétise naturellement la phycocyanine, un pigment bleu qui représente jusqu'à 20% de la biomasse (Braud *et al.*, 2019).

De toute évidence, la teneur élevée en protéines et la composition unique d'acides gras et de vitamines justifient les allégations concernant les bienfaits pour la santé des poissons et des humains (Zhang *et al.*, 2019).

2.2 La spiruline dans le domaine pharmaceutique

De nos jours, le secteur de l'alimentation commerciale s'intéresse aux aliments ou aux produits alimentaires ayant des avantages nutritionnels et médicaux. Ces types de produits alimentaires sont regroupés sous le terme générique de « nutraceutique ». Ils sont également appelés aliments fonctionnels, alicament ou suppléments nutritionnels. Parmi une vaste gamme

de nutriments disponibles, les microalgues (en particulier la chlorella et la spiruline) font l'objet d'une attention particulière en tant que complément alimentaire en raison de leur disponibilité, de leur croissance rapide, de leur faible coût et de leur valeur nutritive élevée (**Sinha et al.**, 2018). La spiruline est principalement commercialisée sous forme de poudre pour sa haute teneur en protéines et vitamines. Cependant, cette microalgue est particulièrement intéressante pour les deux pigments responsables de sa couleur bleu-vert : la phycocyanine et la chlorophylle. Depuis que l'American Food and Drug Administration (FDA) a approuvé la phycocyanine comme colorant bleu naturel en 2013, de nouvelles applications ont été développées dans les industries alimentaire et cosmétique (par exemple, colorant alimentaire, colorant comestible dans les glaces, colorant naturel dans les cosmétiques, etc.) (**Braud et al.**, 2019).

3. Caractéristiques générales de la phycocyanine

3.1. Structure de la Phycocyanine

Les cyanobactéries sont des procaryotes uniques capables de réaliser la photosynthèse. Dans ces organismes, les phycobilisomes (PBS) (figure 2.1) agissent comme une antenne de l'appareil photosynthétique pigmenté. Ces dernières sont composées de plusieurs phycobiliprotéines (PBP) capable de capter 50 % de la lumière nécessaire à la photosynthèse (**Brião et al.**, 2020) et composées de : phycoérythrine (PE), des phycocyanines (PC), des allophycocyanines (APC) et des phycoérythrocyanines (PEC) (**Diyana.**, 2018).

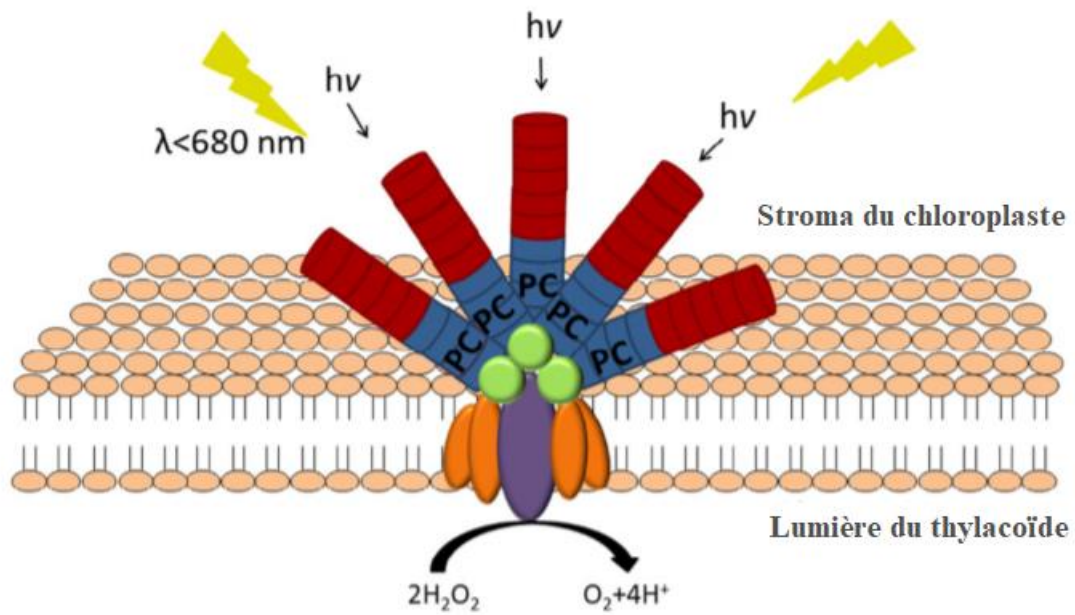


Figure 2.1 : structure du phycobilisome (PBS) (Fernández-Rojas *et al.*, 2014b)

La phycocyanine est l'un des principaux pigments de l'algue (cyanobactérie) spiruline (Usharani., 2012 ; Fernández-Rojas *et al.*, 2014b), elle comprend une chaîne polypeptidique et un chromophore phycobiline (figure 2.2) (Yu *et al.*, 2016), les chaînes protéiques de PC sont des sous-unités α et β homologues, chacune ayant un poids moléculaire de 15 à 20 kDa (Briño *et al.*, 2020).

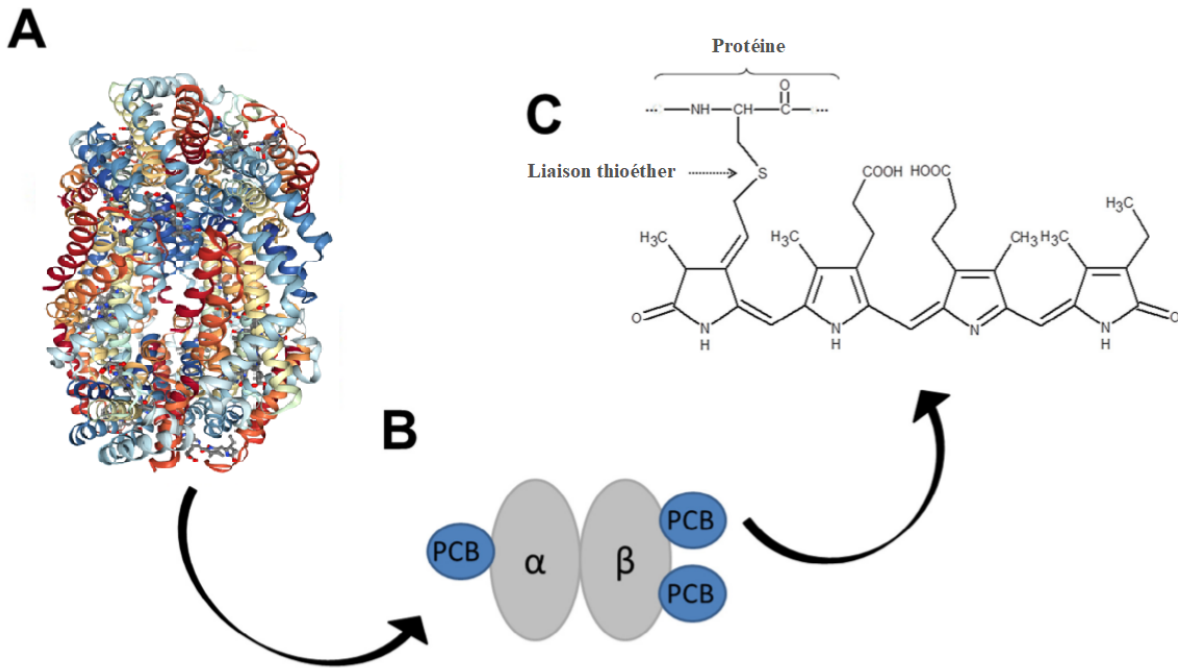


Figure 2.2 : structure de la phycocyanine.

D'où :

(A) Structure cristalline du PC de *S. platensis* sous forme d'hexamère (<http://www.rcsb.org>).

(B) Représentation schématique de l'assemblage PC. Il est composé de deux sous-unités protéiques, les chaînes α et β , une phycocyanobiline (PCB) est liée à la sous-unité α et deux PCB sont liés à la sous-unité β (**Fernández-Rojas et al., 2014a**).

(C) Chacune des sous-unités de phycocyanine contient une chaîne polypeptidique et une (sous-unité α) ou deux (sous-unité β) chromophores-phycobiline. Le lien entre la chaîne polypeptidique et le chromophore est une liaison thioester (**Ping Yu et al., 2016**).

La partie non protéique de la phycocyanine connue sous le nom de phycocyanobiline (PCB) est de structure similaire à celle de la bilirubine et de la biliverdine (figure 2.3), de forme tétrapyrrole à chaîne ouverte, elle est à l'origine de la couleur bleue intense caractéristique de la phycocyanine (**Fernández-Rojas et al., 2014**).

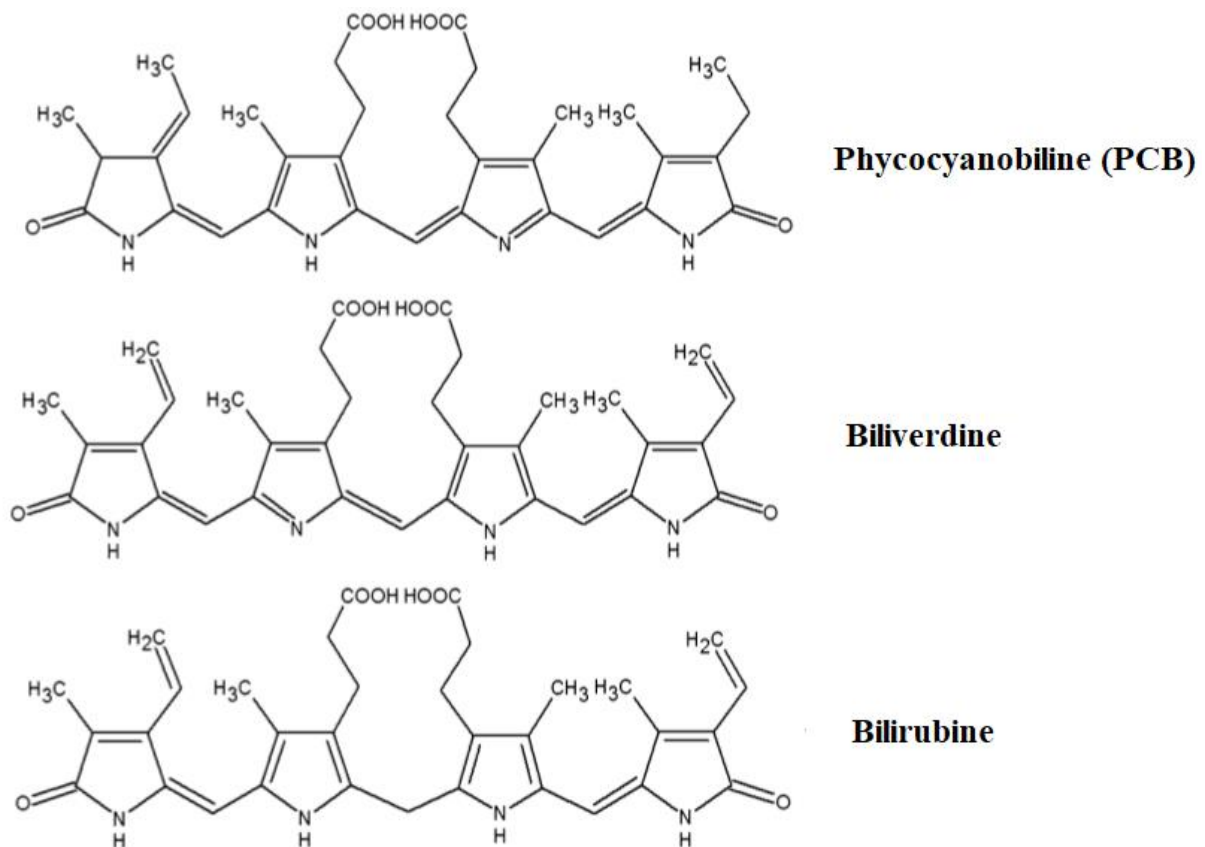


Figure 2.3 : Structure chimique de la phycocyanobiline (PCB), de la biliverdine et de la bilirubine. Le PCB est un tétrapyrrole ouvert semblable à la structure de la biliverdine et de la bilirubine (**Fernández-Rojas *et al.*, 2014b**).

3.2. La phycocyanine dans le domaine de la pharmaceutique

Puissant antioxydant, la phycocyanine est capable de piéger plusieurs radicaux tels que les radicaux hydroxyles, les radicaux peroxydes, l'oxygène singulet, les anions superoxydes, et peroxyde d'hydrogène (**Kuddus *et al.*, 2013 ; Nuhu., 2013, Fernández-Rojas *et al.*, 2014b**). Elle stimule l'immunité et prévient les dommages oxydatifs ce qui pourrait expliquer en partie ses effets anti-tumoraux (**Kamble *et al.*, 2013, Liangqian *et al.*, 2017**). Chez des rongeurs il a été démontré que la phycocyanine peut exercer un large éventail d'effets anti-inflammatoires (**Ghaeni & Roomiani., 2016 ; Bao *et al.*, 2019**), il a notamment été démontré qu'elle peut avoir

des effets hépato-protecteur, cardio-protecteur, neuro-protecteur (**Fernández-Rojas.**, 2014b) et néphroprotecteurs (**Fernández-Rojas.**, 2014a). Une étude a montré que la PC pouvait atténuer les lésions pulmonaires aiguës chez le rat en réduisant les dommages liés au stress oxydatif et en inhibant la cytotoxicité induite par NF- κ B (**Xie *et al.***, 2019). Considérée comme nutraceutique, son utilisation a rapidement augmenté au cours de ces dernières années dans le domaine de la biotechnologie et la pharmaceutique (**Moraes *et al.***, 2011 ; **Diyana *et al.***, 2018), largement utilisée dans l'industrie alimentaire et cosmétique en tant que colorant bleu naturel (**Kamble *et al.***, 2013) et de par ses propriétés de fluorescence, la PC pure est utilisée comme marqueur en immunologie, en microscopie et en cytométrie (**Saranraj & Sivasakthi.**, 2014).

LE JEÛNE

1. Définition du jeûne

Le jeûne est défini comme une abstention volontaire ou involontaire de nourriture, accompagnée ou non d'une consommation d'eau. Le jeûne est connu depuis l'antiquité et il est pratiqué à la fois pour des raisons médicales et spirituelles (**Bouhleb & Shephard., 2016**). D'un point de vue médical, la période de jeûne commence à partir de la sixième heure après le dernier repas (**Bouhleb & Shephard., 2016**).

Le terme jeûne est utilisé pour définir différentes pratiques. Selon le degré d'abstention de consommation d'aliment on distingue ainsi le jeûne total ou complet du jeûne partiel. Le jeûne total se définit comme une abstention de consommation de tout aliment à l'exception de l'eau. Dans le cas où l'abstention concerne même les apports hydriques, on parle de jeûne sec. L'apport calorique est donc nul dans le cas d'un jeûne complet. Par opposition, le jeûne partiel est caractérisé par un apport calorique modéré en général de 250 à 300 kcal par jour (**Chambouvet., 2016**).

A partir de la durée de la privation de nourriture on peut également différencier le jeûne continu du jeûne intermittent. Le jeûne continu correspond ainsi à une longue période de jeûne sans interruption qui s'allonge sur plusieurs jours. Il peut être précédé ou non d'une phase préparatoire et suivi ou non d'une phase de réalimentation progressive. Le jeûne intermittent est quant à lui entrecoupé par des périodes d'alimentation normale. La durée et la fréquence du jeûne intermittent sont variables (**Chambouvet., 2016**). Le ramadan est un exemple de jeûne intermittent.

2. Homéostasie métabolique durant les phases d'alimentation

2.1. Homéostasie énergétique

Le régime alimentaire humain est un mélange complexe de composants en interaction qui affectent cumulativement la santé. L'énergie métabolisable des macronutriments (c'est-à-

dire les glucides, les protéines et les lipides) est responsable de la majeure partie de l'énergie dans l'alimentation humaine (**Andrade., 2017**). Les micronutriments (c'est-à-dire les minéraux et les vitamines) jouent un rôle central dans le métabolisme et dans le maintien de la fonction tissulaire (**Shenkin ., 2006**). Le métabolisme englobe tous les processus biochimiques utilisés par les organismes pour synthétiser les constituants structurels et fonctionnels et pour obtenir de l'énergie. Il est généralement divisé en anabolisme, qui comprend la biosynthèse des macromolécules telles que le glycogène, les protéines et les lipides (par exemple, le triacylglycérol ou TAG) et le catabolisme, qui comprend la dégradation des macromolécules en leurs précurseurs les plus simples : glucose, acides aminés, glycérol et Les acides gras (**Andrade.,2017**).

L'énergie libre dégagée par les réactions d'oxydation catabolique - via l'adénosine triphosphate et le nicotinamide adénine diphosphate - est utilisée pour stimuler les réactions anaboliques endergoniques (**Voet et al., 2016**). Les glucides (par exemple, le glycogène) constituent des réserves d'énergie immédiates (foie), et les lipides (par exemple, TAG) constituent des stocks d'énergie à long terme (adipocytes) (**Campbell., 2016 ; Andrade., 2017**). Les protéines constituent la masse cellulaire active (fonctionnelle) et sont une source d'énergie mineure (**Campbell., 2016**).

2.2. Homéostasie hormonale et enzymatique

L'insuline pancréatique et l'hormone de croissance hypophysaire en anglais appelée growth hormone (GH) - via l'insuline hépatique effectrice- comme le facteur de croissance-1 (IGF-1) - sont des exemples d'hormones anabolisantes. La ghréline gastrique est une autre hormone anabolique qui stimule l'appétit, d'autres sécrétions endocriniennes (pituitaire GH, la prolactine et l'hormone corticotrope) et la prise de poids (**Andrade., 2017 ; Messini et al., 2017**). Les androgènes (par exemple, la testostérone) peuvent avoir un effet anabolisant des

protéines musculaires (et par la suite la croissance musculaire) (**Fomiatti et al.**, 2019). L'anabolisme augmente les besoins de tous les nutriments, y compris les micronutriments, qui doivent être fournis lorsque l'individu prend du poids. D'autre part, le glucagon pancréatique et l'adrénaline surrénale et le cortisol sont des exemples d'hormones cataboliques (hyperglycémiques). Ces hormones, conjointement avec la GH, contre-régulent l'hypoglycémie (c'est-à-dire une glycémie plasmatique inférieure à 70 mg / dL). Le glucagon stimule le foie à libérer du glucose via la glycogénolyse (c'est-à-dire la dégradation du glycogène) et la néoglucogenèse (c'est-à-dire la synthèse du glucose à partir de substrats non glycosidiques) et stimule le tissu adipeux pour libérer les acides gras libres (AGL) et le glycérol via la lipolyse (c'est-à-dire la dégradation du TAG) (**Voet et al.**, 2016 ; **Andrade.**, 2017). Les hormones thyroïdiennes (par exemple, la triiodothyronine ou la T3) sont cataboliques à long terme et jouent un rôle important dans la détermination de l'ensemble du métabolisme (**Albert et al.**, 1980 ; **Andrade.**, 2017). La leptine adipocytaire est de nature catabolique et inhibe l'apport alimentaire et le stockage des lipides tout en favorisant la dépense énergétique (**Kang et al.**, 2008).

Il existe également un métabolisme amphibolique, soi-disant destiné à servir à la fois les voies anabolisantes et cataboliques. Les enzymes (et leurs substrats) de ce métabolisme bidirectionnel restent mieux étudiées chez les organismes procaryotes (bactéries) comme *Escherichia coli*, dont la téléonomie de certaines souches permet une polyvalence métabolique principalement liée au cycle de l'acide citrique, également connu sous le nom d'acide tricarboxylique ou cycle de Krebs (**Sanwal.**, 1970). D'autres aspects dynamiques de ce cycle métabolique vital comprennent l'anaplérose et la cataplérose; le premier terme se réfère au remplissage du cycle de Krebs chaque fois qu'un intermédiaire quitte les mitochondries lors d'événements biosynthétiques, et le second terme se réfère à la fonction opposée (c'est-à-dire l'élimination des anions du cycle de l'acide citrique accumulés) (**Hanson & Hakimi.**, 2008).

Le fait que le métabolisme se déroule en plusieurs étapes, médié par de nombreux substrats enzymatiques et produits (métabolites) motive le terme de métabolisme intermédiaire. Le métabolisme des macronutriments est particulièrement inter-relié (**Campbell.**, 2016). Par exemple, le glucose peut être synthétisé à partir de lactate, de glycérol et d'acides aminés (à partir de la néoglucogenèse), mais pas à partir d'acides gras (**Campbell.**, 2016). En revanche, la dihydroxyacétone phosphate utilisée pour fabriquer le glycérol-3-phosphate (G3P) pour la synthèse des TAG dérive soit du glucose via la voie glycolytique (ou voie Embden-Meyerhof), soit de l'oxaloacétate via une version abrégée de la néoglucogenèse appelée néoglycérogenèse (**Voet et al.**, 2016). La néoglucogenèse et la néoglycérogenèse sont des voies cataplérotiques car elles convertissent les anions du cycle de l'acide citrique en phosphoénolpyruvate, qui est ensuite utilisé pour fabriquer soit du glucose soit du G3P (**Hanson & Hakimi.**, 2008). Il convient de souligner que le glucose et les AGL sont les substrats énergétiques les plus importants pour la plupart des organismes (y compris les humains) et que le métabolisme intermédiaire reflète la primauté de ces carburants. En outre, l'existence de cycles métaboliques comme le glucose-lactate (le cycle de Cori), le glucose-acide gras (le cycle de Randle) et le glucose-alanine (le cycle de Cahill) renforce cette idée (**Andrade.**, 2017).

3. Réponses métaboliques adaptatives au jeûne

3.1. Réponses métaboliques adaptatives au jeûne intermittent et au jeûne prolongé

Chaque jour, les trois repas principaux d'un humain sont le petit-déjeuner, le déjeuner et le dîner, qui sont entrecoupés de périodes de jeûne interprandial d'environ cinq heures chacune. La période de jeûne la plus longue correspond au jeûne nocturne (environ huit heures). Le sommeil impose effectivement une période de jeûne prolongée pendant laquelle le métabolisme énergétique diffère entre les phases du sommeil et commence à augmenter avant le réveil (**Kayaba et al.**, 2017). Le métabolisme à jeun est clairement adapté pour assurer la

mobilisation ordonnée des substrats endogènes et de l'énergie pour maintenir l'activité vitale (Chowdhury & Orskov., 1994). Chez la plupart des mammifères, le foie sert de principal réservoir de glucose, qui est stocké sous forme de glycogène. Chez l'Homme, selon son niveau d'activité physique, 12 à 24 heures de jeûne entraînent généralement une diminution de 20% ou plus du glucose sérique et une déplétion du glycogène hépatique, accompagnées d'un passage à un mode métabolique dans lequel le glucose non hépatique, la graisse-dérivée des corps cétoniques et des acides gras libres sont utilisés comme source d'énergie (figures 3.1) (Longo & Mattson., 2014).

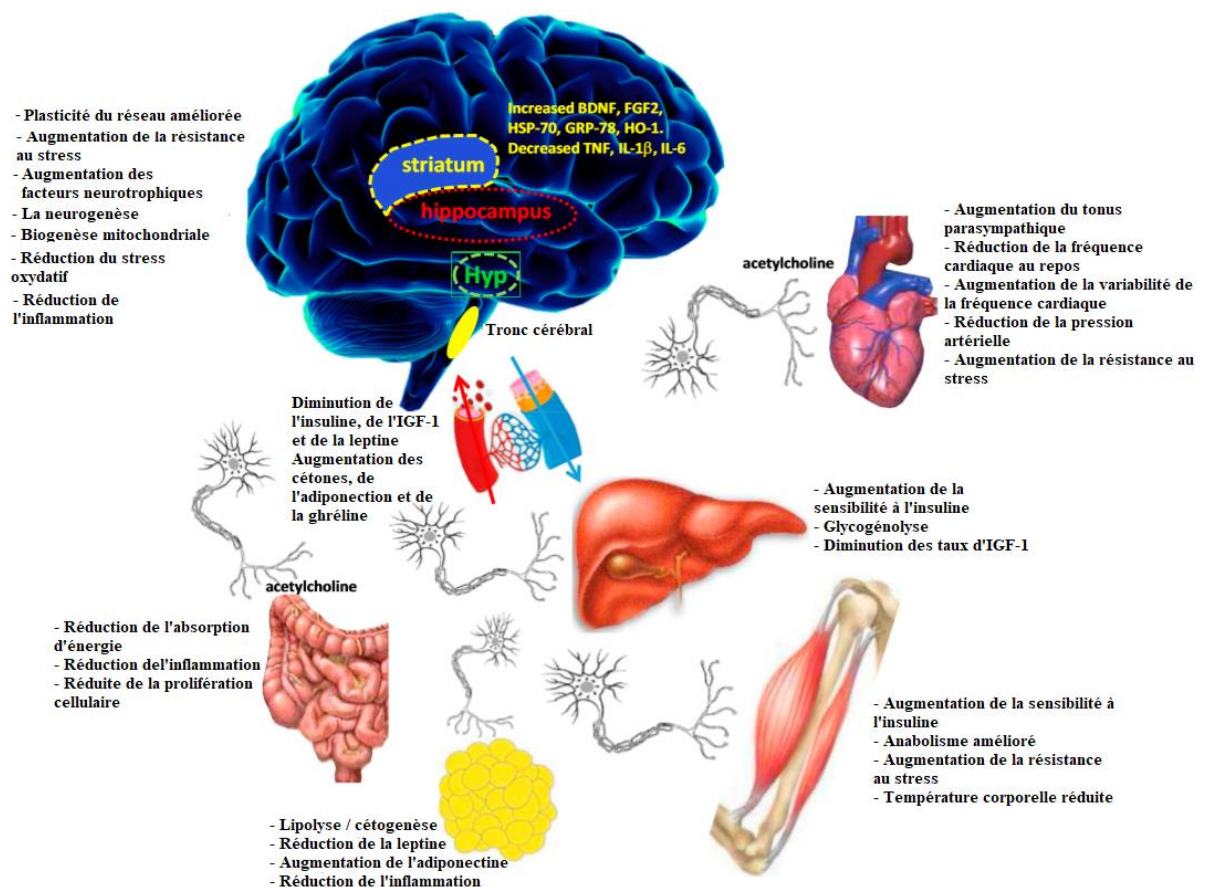


Figure 3.1 : Rôles pivots des systèmes nerveux et endocrinien en tant que médiateurs des réponses adaptatives des principaux systèmes d'organes au jeûne intermittent (Longo & Mattson., 2014).

Cet état se caractérise par de faibles niveaux d'insuline, des niveaux élevés de glucagon, une glycolyse hépatique et une néoglucogénèse pour maintenir les niveaux de glucose sérique et la fonction cérébrale (Figure 3.2) (Kraus & Slentz., 2009).

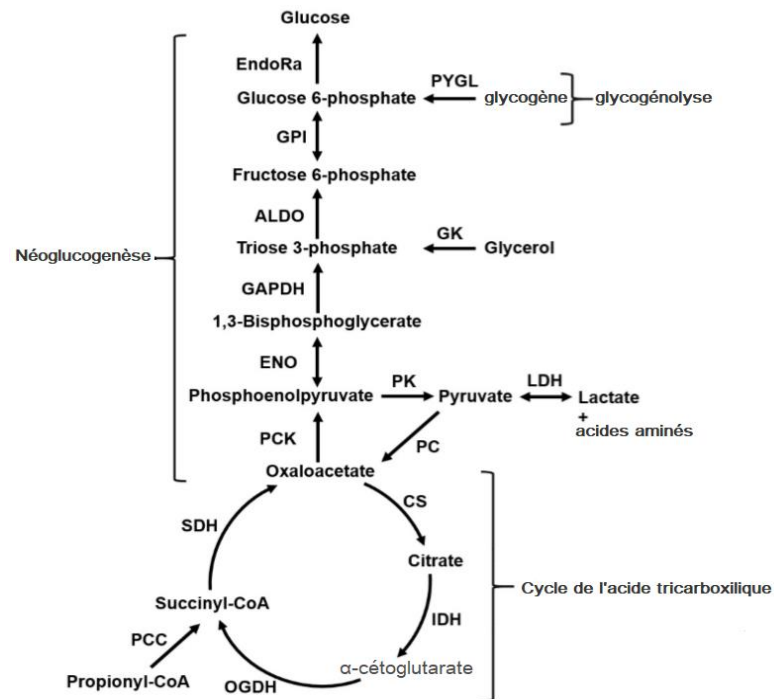


Figure 3.2 : La figure décrit les voies du métabolisme central du carbone du foie qui produisent du glucose en décomposant le glycogène (glycogénolyse) et par la gluconéogénèse du glycérol, du lactate et des acides aminés pendant le jeûne. Les flèches unidirectionnelles indiquent des réactions qui opèrent loin de l'équilibre thermodynamique et sont pratiquement irréversibles. Les flèches bidirectionnelles indiquent des réactions qui fonctionnent plus près de l'équilibre thermodynamique et sont réversibles dans des conditions physiologiques. ALDO, aldolase; CS, citrate synthase; EndoRa, production endogène de glucose hépatique; ENO, énoïase; GAPDH, glycéraldéhyde phosphate déshydrogénase; GK, glycérol kinase; GPI, glucose-6-phosphate isomérase; IDH, isocitrate déshydrogénase; LDH, lactate déshydrogénase; OGDH, oxoglutarate déshydrogénase; PC, pyruvate carboxylase; PCC, propionyl-CoA carboxylase; PCK, phos-phosphoenolpyruvate carboxykinase; PK, pyruvate kinase; PYGL, glycogène phosphorylase; SDH, succinate déshydrogénase (Vinnakota *et al.*,2019).

Le glucose atteint le système nerveux central (SNC) par le biais de transporteurs spécifiques (par exemple, Monocarboxylic Acid Transporters (MCT)1 et 3) (Camandola &

Mattson., 2017). À mesure que le jeûne se poursuit, une cétose progressive se développe en raison de la mobilisation et de l'oxydation des acides gras ainsi que de l'augmentation des corps cétoniques produits dans les hépatocytes à partir de l'acétyl-CoA généré par la b-oxydation des acides gras libérés dans la circulation sanguine par les adipocytes ainsi que par la conversion des acides aminés cétoènes (**Longo & Mattson., 2014**). Après l'épuisement du glycogène hépatique, les corps cétoniques, le glycérol dérivé des graisses et les acides aminés expliquent la génération dépendante de la néoglucogenèse d'environ 80 g / jour de glucose, qui est principalement utilisée par le cerveau (**Longo & Mattson., 2014**).

Le métabolisme à jeun implique également des niveaux élevés de lipolyse et des AGL via le TAG circulant et que la plupart des tissus peuvent utiliser comme source d'énergie, pendant des périodes de jeûne prolongées, le cerveau dépend des corps cétoniques b-hydroxybutyrate et acétoacétate, en plus du glucose, pour la consommation d'énergie (**Basdevant & Tchobroutsky., 1987 ; Kraus & Slentz., 2009 ; Longo & Mattson., 2014**), les taux plasmatiques de 3-b-hydroxybutyrate durant cette période sont environ cinq fois supérieurs à ceux des acides gras libres et de l'acide acétoacétique chez l'Homme (**Longo & Mattson., 2014**). Le passage des glucides et du glucose aux acides gras et aux cétones en tant que principale source de carburant cellulaire pour le corps et le cerveau semble jouer un rôle clé (Figure 3.3). Il a récemment été appelé commutation métabolique intermittente (IMS) et commutation glucose-cétone (G-to-K) (**Wilhelmi de Toledo et al., 2019**).

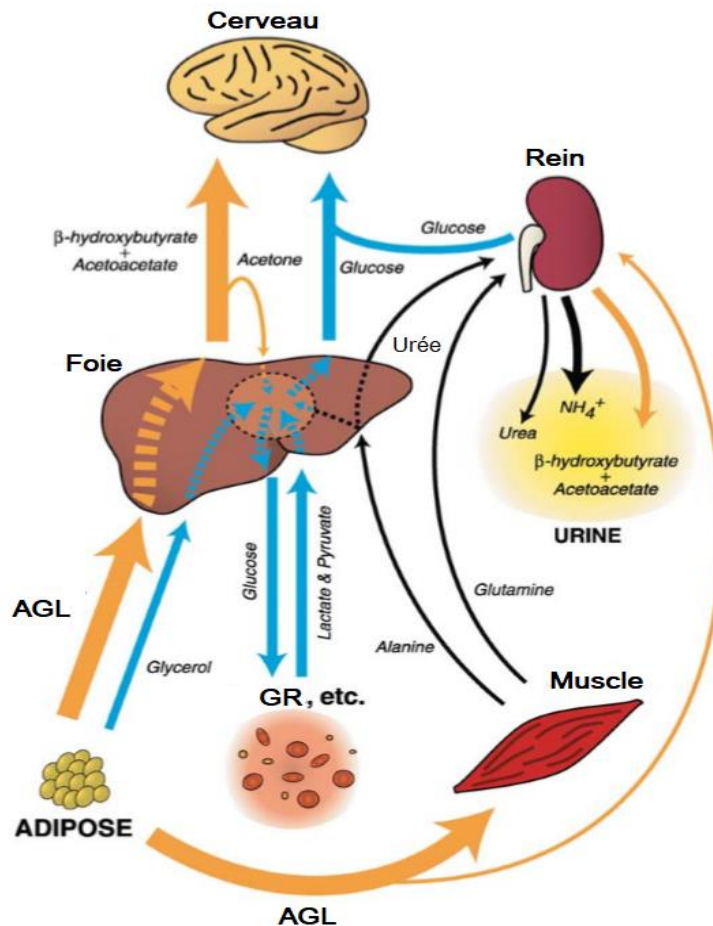


Figure 3.3 : Schéma global du métabolisme du carburant durant la famine. Le foie tire son énergie principale par oxydation partielle des AGL en β -hydroxybutyrate et acétoacétate; muscle et rein par oxydation complète du FFA en CO_2 et H_2O . Le cerveau utilise à la fois le β hydroxybutyrate et l'acétoacétate et le glucose. AGL, acides gras libres ; Globules rouges, globules rouges (GR) (Cahill., 2006).

Les corps cétoniques atteignent le SNC via des transporteurs d'acide monocarboxylique (par exemple, MCT1 et 2) (Camandola & Mattson., 2017) et remplacent le glucose en tant que principale source d'énergie dans le SNC, le cerveau et d'autres organes utilisent ces corps cétoniques dans un processus appelé cétolyse, dans lequel l'acide acétoacétique et le 3-b-hydroxybutyrate sont convertis en acétoacétyl-CoA puis en acétyl-CoA (Longo & Mattson., 2014), diminuant ainsi le besoin pour la néoglucogenèse et épargne le catabolisme des protéines (Kerndt *et al.*, 1982). À ce stade, les changements adaptatifs hormonaux impliquent, par

exemple, de faibles niveaux d'insuline et de T3 ainsi que des niveaux élevés de glucagon et le métabolite inactif de T3 (c'est-à-dire, T3 inverse ou rT3) (**Kerndt *et al.*, 1982**).

Au contraire, à l'état nourri, le métabolisme postprandial est essentiellement caractérisé par des niveaux élevés d'insuline responsables à la fois des actions antilipolytiques et antinéoglucogènes (en supprimant ces deux voies) et des actions lipogéniques (par exemple, en stimulant l'enzyme lipoprotéine lipase, qui hydrolyse le TAG des chylomicrons et des lipoprotéines de très basse densité à la surface endothéliale, qui libère des AGL et du glycérol pour le stockage dans les adipocytes) (**Kraus & Slentz., 2009 ;Longo & Mattson., 2014**). Les aquaglycéroporines (par exemple AQP7 et 9) sont impliquées dans le transport du glycérol dans les adipocytes (**Laforenza *et al.*, 2016**). Par conséquent, l'insuline joue un rôle essentiel dans le contrôle du métabolisme énergétique à la fois à jeun (dans lequel elle prévient une acidocétose sévère) et également à l'état nourri (dans laquelle elle favorise le stockage du carburant) (**Cahill., 2006 ; Asari *et al.*, 2019**). Les patients diabétiques, en particulier les diabétiques de type 1, peuvent développer une acidocétose sévère en raison d'une profonde carence en insuline (**Basdevant & Tchobroutsky., 1987**)

3.2. Réponses métaboliques adaptatives à la famine

Le jeûne fait souvent référence à l'abstinence de nourriture, et le terme famine est utilisé pour décrire un état de faim extrême résultant d'un manque prolongé de nutriments essentiels (**Wang *et al.*, 2006**). Par conséquent, le jeûne adaptatif brièvement décrit ci-dessus est une tactique évolutive distincte de la famine (**Martinez & Ortiz., 2017**). La famine est, en principe, plus longue, potentiellement nocive et peut entraîner une issue fatale. De plus, jeûne et famine ne sont pas des termes synonymes, mais l'expression jeûne prolongé est utilisée comme synonyme de famine dans la littérature. La réponse à la famine est intégrée à tous les niveaux d'organisation et orientée vers la survie de l'espèce (**Wang *et al.*, 2006**). La faim est une réponse adaptative à la privation alimentaire qui implique des changements sensoriels, cognitifs et

neuroendocriniens (par exemple, augmentation des neuropeptides Y ou NPY) qui motivent et permettent un comportement de recherche de nourriture (**Longo & Mattson., 2014**). Étant donné que les réserves de glucides s'épuisent rapidement et que les sources de protéines sont mineures, la période de survie dépend de la conservation des réserves de protéines tandis que l'énergie pour les fonctions métaboliques essentielles est maintenue (**Kerndt et al.,1982 ; Andrade., 2017**). Hormis la glycogénolyse hépatique rapidement épuisée, les autres principales voies métaboliques d'approvisionnement énergétique se complètent mutuellement pendant le jeûne prolongé ou la famine (figure 3.4). L'augmentation du rT3 sérique et la diminution de T3 conduisent à la conservation de l'énergie et à une diminution de la dégradation des protéines (**Hennemann., 1988**).

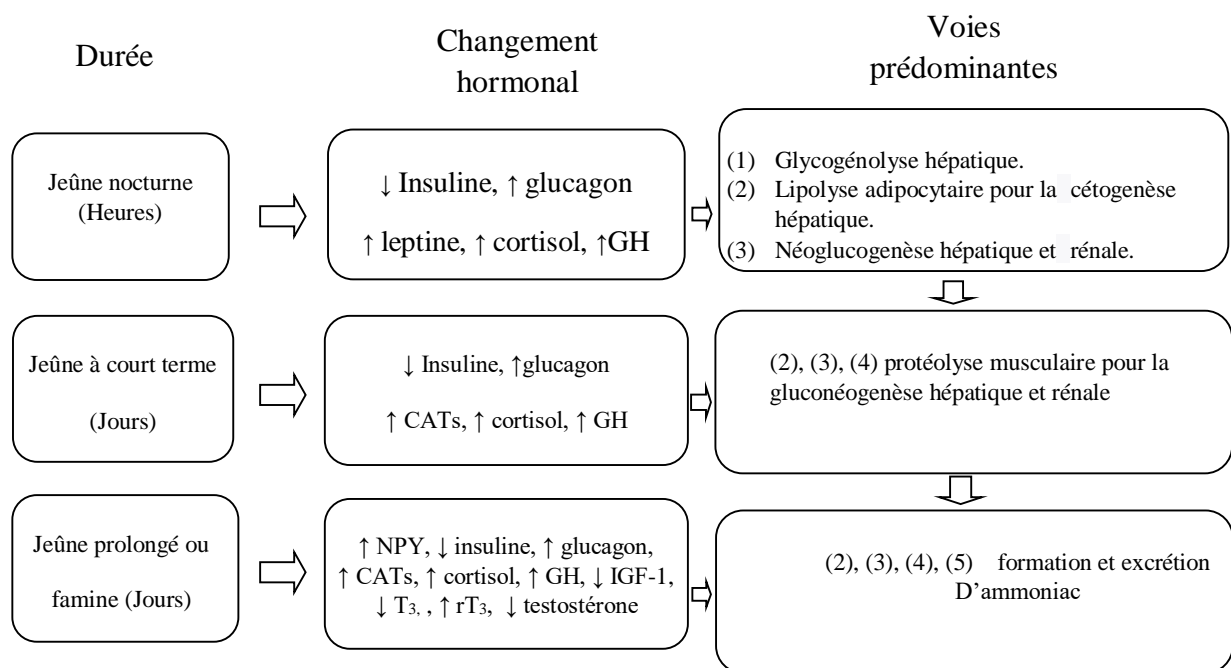


Figure 3.4 : Aperçu simplifié des adaptations hormonales et métaboliques pendant la privation alimentaire. Remarque : ↓, faible ; ↑, élevé ; CAT, catécholamines (épinéphrine et norépinéphrine) (**Andrade., 2017**). Les CAT plasmatiques sont inchangées après 36 heures de jeûne, mais elles sont significativement augmentées après 72 heures de jeûne (**Webber J, Macdonald., 1994**). La glucose-6-phosphatase est une enzyme présente principalement dans le foie et les reins (**Van Schaftingen & GERIN., 2002**). Il joue le rôle important de fournir du glucose pendant la famine (**Basdevant & Tchobroutsky., 1987**).

L'augmentation de la néoglucogenèse rénale s'accompagne d'une augmentation de la formation d'ammoniac, comme en témoigne l'augmentation de l'excrétion urinaire d'ammoniac (**Basdevant & Tchobroutsky., 1987**). Néanmoins, la lipolyse adipocytaire (avec perte de poids) pour la céto-genèse hépatique devient la voie métabolique interdépendante la plus importante pendant la famine (**Basdevant & Tchobroutsky., 1987**). Si la famine continue jusqu'à ce que les réserves adipeuses soient épuisées, le muscle est dégradé par la néoglucogenèse, conduisant potentiellement à un résultat mortel (**Cahill., 2006**).

L'autophagie est un processus évolutif conservé qui dégrade les composants cellulaires pour restaurer l'homéostasie énergétique dans des conditions nutritionnelles limitées telles que la famine (**Mans et al., 2017**). Ainsi, la famine favorise l'autophagie (**Lei et al., 2017**). Cependant, les hormones anabolisantes (par exemple, l'insuline et l'IGF-1) et les hormones cataboliques (par exemple, le glucagon et les CAT) sont d'importants régulateurs de l'autophagie (**Sinha et al., 2017**).

4. Les vertus du jeûne

Actuellement, un grand intérêt est porté pour le rôle de la nutrition dans la prévention des troubles liés à l'âge, au stress oxydatif, et aux stress causés par les traitements médicamenteux ou par des xénobiotiques d'une manière générale (**Usharani et al., 2012**). Plusieurs études suggèrent que le jeûne ou les régimes alimentaires imitant le jeûne pourraient atténuer et/ou remédier aux effets secondaires d'une variété de médicaments (**Usharani et al., 2012**), connu aussi pour son effet antioxydant bénéfique et sa modulation du stress oxydatif associé au vieillissement (**Usharani et al., 2012 ; Kuddus et al., 2013**). Il est utilisé dans le traitement des maladies auto-immunes (**Nuhu., 2013**), le diabète et maladies cardiovasculaires (**Liangqian et al., 2017**), et favorise la perte de poids ainsi que la diminution de la tension artérielle (**Reddy et al., 2000**). Il intervient dans l'amélioration des effets de la cancérothérapie, en augmentant

la résistance à la chimiothérapie chez les cellules normales non cancéreuses et favorise la régénération des tissus normaux (**Kamble *et al.*, 2013 ; Fernández-Rojas *et al.*, 2014a ; Ghaeni & Roomiani., 2016 ; Serban *et al.*, 2016**). Le jeûne s'inscrit dans de nouvelles approches thérapeutiques pour la prévention et le traitement de certains types de tumeurs (**Moraes *et al.*, 2011 ; Kamble *et al.*, 2013 ; Ghaeni & Roomiani., 2016 ; Serban *et al.*, 2016**), combiné à la chimiothérapie, immunothérapie ou autres traitements, le jeûne devient un allié qui s'inscrit dans une stratégie potentiellement prometteuse pour augmenter l'efficacité du traitement, prévenir l'acquisition d'une résistance et réduire les effets secondaires (**Kamble *et al.*, 2013**).

PROBLEMATIQUE

Un certain nombre d'études sur les effets secondaires de la deltaméthrine a été signalé, y compris l'hépatotoxicité et neurotoxicité (**Abdel-Daim et al.**, 2016), néphrotoxicité (**Chandra et al.**, 2013), des anomalies cardiovasculaires (**De la Cerda et al.**, 2002), immunosuppression (**Rehman et al.**, 2011) et des effets secondaires sur la reproduction (**Desai et al.**, 2016).

Récemment, plusieurs publications ont fait l'objet d'études *in vivo* sur le rôle protecteur de la spiruline vis-à-vis des effets toxiques causés par le DLM (**Abdel-Daim et al.**, 2013, **Abdelkhalek et al** 2014, **Abdel-Daim et al** 2016). Nous supposons que la phycocyanine, puissant antioxydant de la spiruline, pourrait être à l'origine des effets protecteurs de cette dernière.

Les principaux objectifs de cette étude consiste à déterminer les effets de très faibles doses de phycocyanine d'une part sur les anomalies métaboliques ainsi que son rôle antagoniste sur l'hépatotoxicité, la néphrotoxicité et la cardiotoxicité induites par un traitement subaiguë à la DLM chez des rats albinos afin d'assister les défenses du corps contre les xénobiotiques, et de mettre en exergue les effets du jeûne d'autre part sur les anomalies métaboliques ainsi que son rôle protecteur sur l'hépatotoxicité, la néphrotoxicité et la cardiotoxicité induites par un traitement subaiguë à la DLM chez des rats albinos afin de stimuler les défenses propres au corps contre les toxiques.

CHAPITRE 2 :
MATERIEL
&
METHODES

Matériel et méthodes :

L'investigation de cette recherche a concerné :

Extraction et purification de la phycocyanine à partir de la spiruline d'origine algérienne « Tamanrasset ».

Détermination de la pureté de la phycocyanine afin d'apprécier sa qualité.

Evaluation de l'activité biologique *in vitro* de deux extraits de phycocyanine afin d'apprécier leurs pouvoir antioxydant à travers les tests suivants :

- Test du 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).
- Test de Blanchissement de la Béta-carotène.
- Test de chélation des ions métalliques.

Evaluer *in vivo* des effets antitoxiques de la phycocyanine (à raison de $3,6 \pm 0,1$ mg de PC/Kg de granulé) après son ingestion par des rats traités par la deltaméthrine à raison de 1,28 mg/kg de poids vif/jour, ce qui représente 1/100 DL₅₀ (**Mazmanci *et al.*, 2011 ; Dubey *et al.*, 2013 ; Khan *et al.*, 2017**)) ;

Evaluer *in vivo* les effets antitoxiques du jeûne sur des rats traités par de la deltaméthrine;
Etudier l'impact sur le profil biochimique.

Et enfin, réaliser des coupes histologiques du foie, cœur et reins des rats des différents groupes ayant subis les traitements cités ci-dessus.

Pour ce faire, un ensemble de techniques et de dosages ont été entrepris afin de pouvoir atteindre ces objectifs.

I. Lieux et durées de stages :

- ✓ L'extraction de la phycocyanine s'est déroulée au niveau du laboratoire de génie chimie de l'université SAAD DAHLAB de BLIDA 1, elle a duré deux jours.
- ✓ La purification de la phycocyanine s'est déroulée au niveau du laboratoire de la division biotechnologie et santé du CRBT (Centre Nationale de Recherche en Biotechnologie) de Constantine, elle a duré deux jours.
- ✓ La lyophilisation s'est effectuée au niveau du laboratoire de la division biotechnologie alimentaire du CRBT de Constantine, elle a duré deux jours.
- ✓ Les tests antioxydants ont été réalisés au niveau du laboratoire de la division biotechnologie et santé du CRBT de Constantine, ils ont duré une semaine.
- ✓ L'expérimentation animale s'est déroulée au niveau de l'animalerie du Centre de Recherche et Développement de l'industrie pharmaceutique d'Algérie SAIDAL (CRD SAIDAL), elle a duré trois mois.
- ✓ L'extraction du sérum sanguin s'est effectuée au niveau du laboratoire d'analyse biochimique de l'Institut Pasteur d'Alger (Annexe de Ruisseau), elle a duré trois jours.
- ✓ L'analyse du profil biochimique du sérum sanguin a été effectuée au niveau du CHU (Centre Hospitalo-Universitaire) Mustapha BACHA, elle a duré une journée.
- ✓ La réalisation des coupes histologiques ainsi que leurs interprétations ont été faites au niveau du Laboratoire Cytologie et de Pathologie Vétérinaire de l'Institut Pasteur d'Alger (Annexe de Ruisseau), elles ont duré deux mois.

II. Produits chimiques & matériel végétal

La deltaméthrine (DECIS 25 EC25 g/L) a été achetée en tant que produit commercial formulé par la firme BAYER (Espagne), pays fournisseur matière active (Allemagne) de composition : Solvant naphta aromatique léger (pétrole), Deltaméthrine, 2-Méthylpropane-1-ol, Tétrapropylènebenzènesulfonate, sel de calcium.

La Spiruline (spirulhiri), originaire du massif cristallin du Hoggar, cette souche est devenue la souche du Hoggar BEHATAM (pour Boileau, Étienne, Hiri Abdelkader, Tamanrasset, ndlr) (**Hiri A.**, 2014), Mr Hiri nous a remis la spiruline sous forme de bâtonnets séchés issus de la Eurl HIRI Abdelkader.

III. Extraction et purification de la phycocyanine

Elle s'est déroulée au niveau du laboratoire du Centre National de Recherche en Biotechnologie (CRBT) de Constantine. La phycocyanine a été extraite à partir d'échantillon de spiruline par macération puis soumise à des cycles de congélation /décongélation comme décrit ci-dessous :

III. 1. Extraction :

La biomasse séchée a été broyée et homogénéisée à l'aide d'un mixeur. A 250 gr de poudre de spiruline on y ajoute 2,5 L de solution tampon phosphate (0,05 M, pH 7) additionnée d'azide sodium (1mM). Cette suspension a été soumise à deux cycles de congélation/décongélation pendant 48 heures (**Moraes et al.**, 2011) puis centrifugée à 15000 tr/min à 4°C.

III. 2. Purification :

Après récupération du surnageant contenant la phycocyanine (Fig 4.1), celui-ci est fractionné par précipitation avec le sulfate d'ammonium d'abord à 25% puis à 50 % de saturation (**Patel et al.**, 2005). Le précipité à partir de 25 % de saturation de sulfate d'ammonium est éliminé (**Patel et al.**, 2005). Le surnageant est porté à 50% de saturation de sulfate d'ammonium solide. Laisse reposer 4 h à 4°C et à l'obscurité (**Patel et al.**, 2005).

La suspension obtenue est centrifugée à 15000 tr/min à 4 °C, on obtient un surnageant contenant de la phycocyanine.



Figure 4.1 : Photographie du surnageant contenant de la phycocyanine (**photo original**).

III. 3. Détermination de la pureté de la C-phycocyanine :

La pureté de la C-phycocyanine est évaluée sur la base du rapport entre les deux absorbances à 620 et 280 nm correspondent à celles de la C-phycocyanine et des protéines (**Vali Aftari et al., 2015**), elle est calculée en utilisant l'équation qui suit (**Jiang et al., 2017**) :

$$\text{Pureté } C - PC = A_{620}/A_{280}$$

Selon l'intervalle de pureté, la PC est considérée de qualité alimentaire, réactive ou analytique comme détaillé ci-dessous (**Jiang et al., 2017**) :

$A_{620} / A_{280} \leq 0,7$, la C-PC est considérée de qualité alimentaire ;

$0,7 \leq A_{620} / A_{280} \leq 3,9$, la C-PC est considérée de qualité réactive ;

$A_{620} / A_{280} \geq 4,0$, la C-PC est considérée d'un niveau analytique.

III. 4. Estimation des phycobiliprotéines

Le surnageant bleu foncé contenant les phycobiliprotéines a été recueilli. Les absorbances de phycobiliprotéines ont été mesurées sur un lecteur de microplaque (EnSpire de Perkin Elmer Multimode) aux longueurs d'onde 620, 652 et 562 nm, pour le calcul des concentrations des phycocyanines (C-PC), des allophycocyanines (APC) et phycoerythrine PE. Les équations suivantes (1-3) ont été utilisées (Bennett & Bogorad., 1973, Jiang *et al.*, 2017) :

$$C - PC \text{ (mg/mL)} = [A_{620} - 0,474(A_{652})]/5,34 \quad (1)$$

$$APC \text{ (mg/mL)} = [A_{652} - 0,208(A_{620})]/5,09 \quad (2)$$

$$PE \text{ (mg/mL)} = [A_{562} - 2,41(C - PC) - 0,849(APC)]/9,62 \quad (3)$$

Suite à son extraction la phycocyanine a été lyophilisée (fig 4.3) après une déshydratation partielle à l'aide d'un rota-vapeur (fig 4.2), puis incorporée au régime à granulés standard à raison de $3,6 \pm 0,1$ mg par kg de granulés.



Figure 4.2 : Déshydratation partielle de la phycocyanine à l'aide d'un rota-vapeur (photo original).



Figure 4.3 : Lyophilisation du surnageant partiellement déshydraté (photo original).

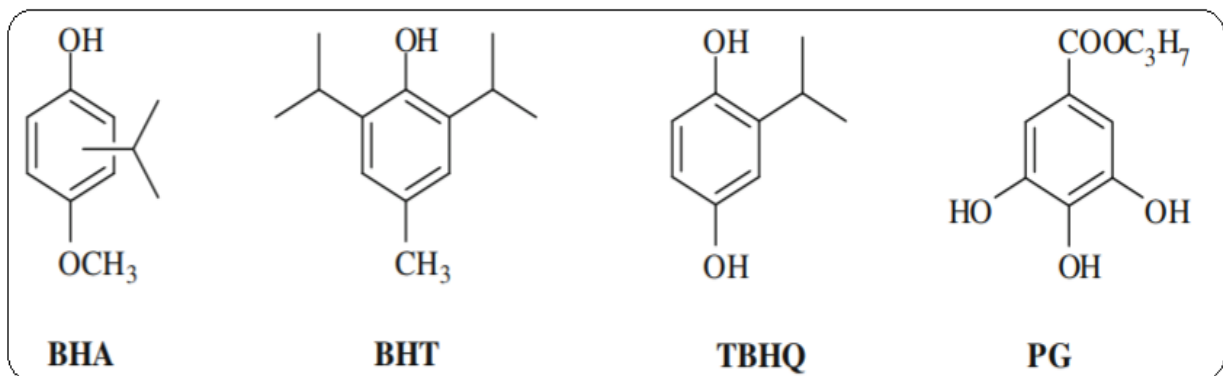
IV. Evaluation de L'activité biologique des extraits de la phycocyanine

IV. 1. Les antioxydants

Les antioxydants sont des composés capables de retarder ou d'inhiber le processus d'oxydation qui se produit sous l'influence de l'oxygène atmosphérique ou des espèces d'oxygène réactives. Ils sont utilisés pour la stabilisation des produits polymères, de la pétrochimie, des denrées alimentaires ainsi que des cosmétiques et médicaments. Les antioxydants sont impliqués dans le mécanisme de défense de l'organisme contre les pathologies associées à l'attaque des radicaux libres. Les antioxydants endogènes sont des enzymes, comme la superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase ou des composés non enzymatiques, tels que l'acide urique, la bilirubine, l'albumine ainsi que la métallothionéines. Lorsque les facteurs endogènes ne peuvent pas assurer un contrôle rigoureux

ainsi qu'une protection complète de l'organisme contre les espèces d'oxygène réactives, la nécessité d'apporter des antioxydants exogènes s'impose, comme des compléments nutritionnels ou pharmaceutiques qui contiennent comme principe actif un composé antioxydant. Parmi les antioxydants exogènes les plus importants, nous avons la vitamine E, la vitamine C, le β -carotène, la vitamine E, les flavonoïdes, le Sélénium (Se) qui est bien connus, mais aussi la vitamine D et la vitamine K₃ (Pisoschi., 2012)

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence, comme l'acide ascorbique (vitamine C), α -tocophérol (vitamine E) et les antioxydants synthétiques tels que la BHA (Butyl- Hydroxy-Anisol) et le BHT (butyl-hydroxy-toluène) figure 4.4.



Où : TBHQ : butylhydroquinone, PG : propyl gallate.

Figure 4.4 : Quelques antioxydants synthétiques (Gülçin, 2011).

IV. 1.1. Les activités antioxydantes

Plusieurs méthodes *in vitro* et *in vivo* sont utilisées pour évaluer l'activité antioxydante d'un composé. L'activité antioxydante ne doit pas être conclue sur la base d'un seul modèle de test antioxydant. En pratique plusieurs tests *in vitro* sont effectuées pour évaluer les activités antioxydantes sur des échantillons d'intérêt car il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement d'une façon bien

précise. Par conséquent, il est difficile de comparer pleinement une méthode à une autre. Généralement les tests antioxydant *in vitro* utilisant des pièges à radicaux libres sont relativement simples à effectuer. Parmi les méthodes de piégeage des radicaux libres notons le test DPPH qui est en outre rapide, simple (c'est-à-dire n'implique pas de nombreuses étapes et réactifs) et peu coûteux par rapport à d'autres modèles de test (**Alam et al.**, 2013).

Dans le présent travail nous avons essayé d'évaluer la capacité antioxydante de nos deux extraits aqueux en utilisant trois méthodes spectrophotométrique à savoir ; l'activité antiradicalaire par le DPPH• (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl, DPPH), la chélation des ions métalliques et le test de blanchissement du β -carotène.

IV.1.1.1. Test du 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH')

Dosage de l'activité anti radicalaire par le test DPPH

Il s'agit de la méthode indirecte la plus ancienne utilisée pour déterminer l'activité antioxydante. Le test DPPH est utilisé pour déterminer le potentiel antioxydant à la fois des composés phénoliques des aliments, ainsi que des échantillons d'intérêt biologique (**Roginsky & Lissi.**, 2005). Le radical DPPH porte une couleur pourpre foncé et c'est l'un des rares radicaux d'azote organique stable (**Djeghim.**, 2016).

Principe :

Le principe du test consiste à l'addition du radical DPPH• à une solution éthanolique (ou méthanolique) contenant un composé potentiellement antioxydant et pouvant céder un atome d'hydrogène qui entraîne une diminution de la coloration violette caractéristique de l'apparition de la forme réduite du DPPH (figure 4.5).

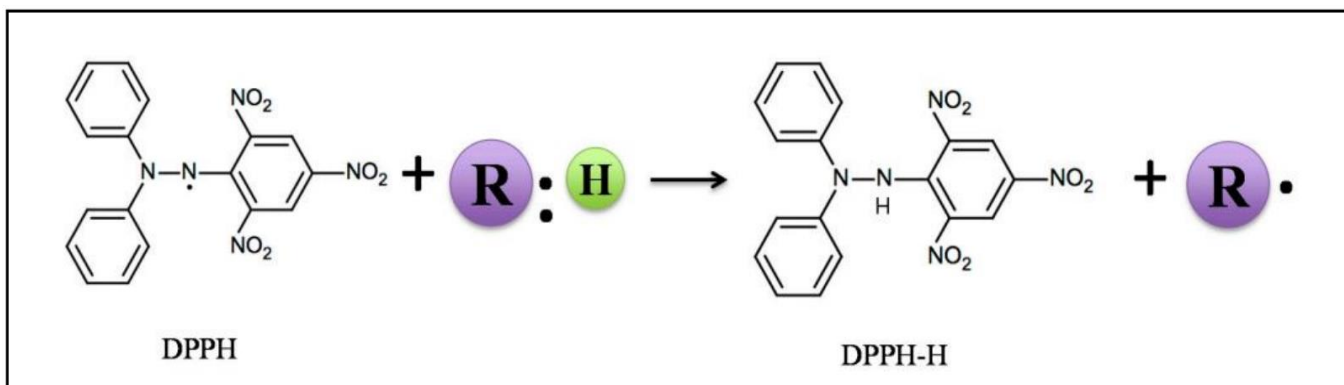


Figure 4.5 : Mécanisme de la réaction de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) avec un antioxydant (Djeghim., 2016).

Préparation de l'échantillon :

Une quantité de quatre milligrammes de l'extrait 1 et 2 de la phycocyanine et des standards (BHT et l'acide tannique), ont été dissoutes dans 1 mL de méthanol (Solution mère de 4000 ppm), c'est à partir de cette dernière qu'une série de dilution de 1/2 a été préparée. Le tableau 4.1 présente la série de dilution préparée pour l'extrait 1 sachant que l'extrait 2 ainsi que les standards ont été préparé de la même manière.

NB : on peut dissoudre nos extraits de phycocyanine dans une solution de tampon phosphate pH7.

Tableau 4.1 : Série de dilutions et concentration respectives de l'extrait 1 de la phycocyanine.

Extrait 1 de la phycocyanine							
Dilution	1/1 (solution mère)	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Concentration de la solution (mg/mL)	4 mg/mL (4000 ppm)	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625
Concentration dans le milieu réactionnel en µg/mL	800	400	200	100	50	25	12,5

Méthode :

L'activité antiradicalaire a été mesurée selon le protocole décrit par **Blois**, 1958 avec de légères modifications. Un volume de 40 µL des différentes concentrations de chaque échantillon ainsi que les standards, sont déposés dans chaque puits, un volume de 160 µL de la solution méthanolique de DPPH (0,1 mM) est ajoutée par la suite. Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en ajoutant 40 µL de méthanol à 160 µL de la solution méthanolique de DPPH. Après incubation à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min, l'absorbance est mesurée à 517 nm. Les tests sont pratiqués en triplicata.

Le pourcentage de l'activité antiradicalaire de DPPH a été calculée comme suit :

$$\% \text{ AA} = [(\text{Abs}_{\text{contrôle}} - \text{Abs}_{\text{extrait/standard}}) / \text{Abs}_{\text{contrôle}}] \times 100$$

IV.1.1.2. Test de Blanchissement du Béta-carotène

Le potentiel antioxydant d'un extrait végétal peut éventuellement être évalué par sa capacité à inhiber l'oxydation du β -carotène.

Dans le test de blanchiment au β -carotène, l'acide linoléique produit des hydroperoxydes sous forme de radicaux libres pendant une incubation à 50 °C. la présence d'antioxydants dans l'extrait minimisera l'oxydation du β -carotène par les hydroperoxydes. Les hydroperoxydes formés dans ce système seront neutralisés par les antioxydants des extraits (**Kubola & Siriamornpun., 2008**).

Principe :

Cette technique spectrophotométrique est basée sur la mesure de la décoloration du β -carotène à 470 nm résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique générant des radicaux peroxydes. L'appréciation du pouvoir antioxydant des extraits est basée sur la diminution de la décoloration du β -carotène (**Miller., 1971**).

Méthode

0,5 mg de β -Carotène sont mélangés à 25 μ L d'acide linoléique et 200 μ L de tween 40, le tout est additionné à 1 mL de chloroforme. Après évaporation du mélange à l'aide d'un rota vapeur on ajoute 50 mL d'eau oxygénée. La solution générée doit avoir une absorbance de 0,9. Dans le cas contraire l'absorbance est ajustée en ajoutant de l' H_2O_2 .

Dans chaque puits de la plaque, 40 μ L de chaque concentration des extraits et du standard sont ajoutés à 160 μ L de la solution du β -carotène, la plaque est incubée à 45°C et l'absorbance est mesurée à 470 nm chaque 30 min pendant 2 heures.

Les pourcentages d'inhibition de blanchiment de β -carotène ont été calculés par la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(D.O \text{ E120} - D.O \text{ T120}) / (D.O \text{ T0} - D.O \text{ T120})] \times 100$$

Où :

D.O E120 : Absorbance de l'extrait à T = 120 min

D.O T120 : Absorbance du témoin négatif à T= 120 min

D.O T0 : Absorbance du témoin négatif à T = 0 min

IV.1.1.3. Test de chélation des ions métalliques

Les métaux redox actifs comme le fer, le cuivre, le chrome, le cobalt et d'autres métaux possèdent la capacité de produire des radicaux réactifs tels que le radical anion superoxyde et l'oxyde nitrique dans les systèmes biologiques (**Sánchez-Vioque *et al.*, 2013**), Ces ions métalliques peuvent perturber l'homéostasie et entraîner un stress oxydatif dû à une formation accrue des espèces réactives de l'oxygène (ROS), responsables des dommages de l'ADN, de la peroxydation lipidique, des modifications des protéines ainsi que des symptômes de nombreuses maladies, dont le cancer, les maladies cardiovasculaires, le diabète, l'athérosclérose, les troubles neurologiques (Maladie d'Alzheimer et de Parkinson), inflammation chronique et autres (**Jomova & Valko., 2011**).

Principe :

L'évaluation de l'activité chélatrice des métaux d'un antioxydant est basée sur la mesure de l'absorbance du complexe Fe^{+2} -ferrozine après un traitement préalable d'une solution d'ion ferreux avec prise d'essai. La ferrozine forme un complexe avec le Fe^{+2} libre, mais pas avec les ions Fe^{+2} liés à d'autres chélateurs ; ainsi, une diminution de la quantité du complexe ferrozine- Fe^{+2} formé après le traitement indiquant la présence d'antioxydant chélateurs. Le complexe ferrozine- Fe^{+2} produit un chromophore rouge (fig 4.6) dont l'absorbance est mesurable à la longueur d'onde de 562 nm (**Gülçin., 2011**).

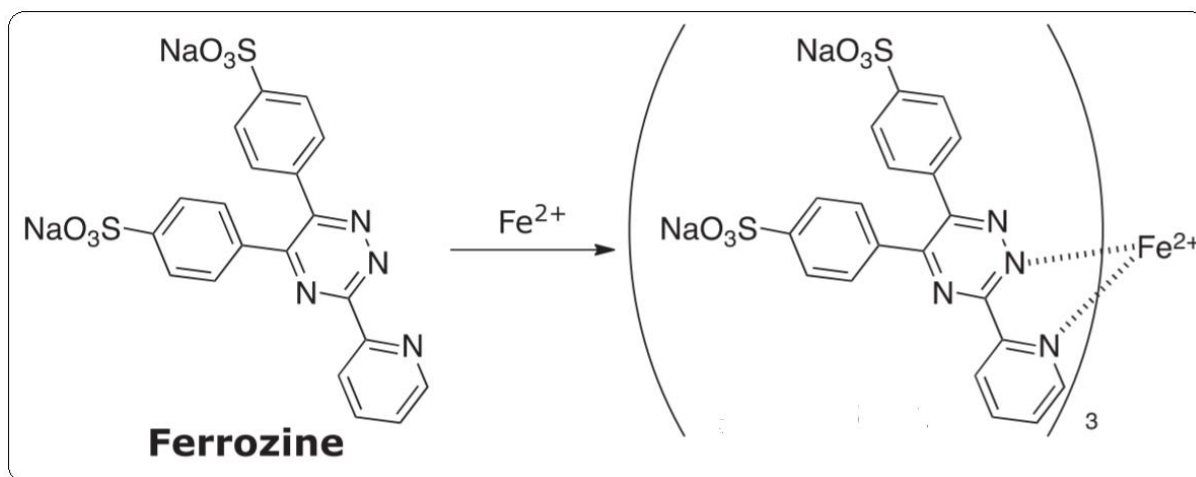


Figure 4.6 : Chélation des ions métalliques (Hirayama & Nagasawa., 2017).

Méthode :

La chélation des ions ferreux (Fe^{+2}) par les extraits a été estimée par la méthode de **Dinis *et al.*, 1994.**

Deux millilitre de différentes concentrations (25-250 $\mu\text{g/mL}$) d'extrait dissouts dans le méthanol sont ajoutés à une solution de 2mM de $FeCl_2$ (0,05 mL). La réaction est initiée par l'ajout de 5 mM de ferrozine (0,2ml), par la suite le mélange est mis en agitation continue à température ambiante pendant 10 mn. L'absorbance est mesurée à 562 nm. Le contrôle est constitué par le mélange de $FeCl_2$ et de ferrozine, l'Éthylènediaminetétraacétique (EDTA) est utilisé comme standard.

L'effet chélatant des ions ferreux a été calculé par l'équation suivante (**Ozen & Turkekul., 2010**) :

$$\text{Effet de chélation des ions métalliques(\%)} = \left[\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait/standard}}}{A_{\text{contrôle}}} \right] \times 100$$

V. Expérimentation animale

Nous avons utilisé pour notre expérimentation trente-six rats adultes (souche Wistar ; d'âge : 10 – 12 semaines ; poids : 150 – 170 g ; sexe : femelle) obtenus auprès de l'Institut Pasteur d'Algérie (Annexe de Kouba). L'expérimentation animale s'est déroulée au niveau de l'animalerie du Centre de Recherche et Développement de l'industrie pharmaceutique d'Algérie SAIDAL (CRD SAIDAL). Les animaux étaient logés dans des cages en plastique avec des grilles en acier inoxydable (06 sujets/cage). La litière est composée de la sciure de bois. Toutes les cages sont équipées de tétines assurant une alimentation régulière en eau.

La nourriture sous forme de granule ainsi que l'eau étaient fournies *ad libitum*, maintenus dans des conditions normales de température (22 ± 1 °C), l'humidité relative est d'environ $55 \pm 10\%$. La stabilité de la température est assurée grâce à un système d'aération (ventilateur/climatiseur). Le cycle de luminosité / obscurité est d'environ 12 h. L'expérimentation animale s'est déroulée selon le respect des lignes directrices du CRD appartenant au groupe SAIDAL (Industrie pharmaceutique d'Algérie) pour le soin et l'expérimentation sur les animaux de laboratoire.

V.1. Régimes alimentaires :

Deux types de régime alimentaires sont présentés aux rats. Présentés seuls ou combinés avec un agent stressant « insecticide » à base de deltaméthrine, *ad libitum* ou espacés par des périodes de jeûne.

La composition de ces régimes est la suivante :

Régime témoin (contrôle) : à base de granulés standard (de composition : maïs, son de blé, remoulage, Tourteau de soja, mélasse, CMV) et de l'eau *ad libitum*.

Régime (PC) : à base de granulés standard enrichie (avec $3,6 \pm 0,1$ mg de PC/Kg de granulé) et de l'eau *ad libitum*.

Régime (DLM) : à base de granulés standard, DLM diluée dans l'eau à concentration à près de 1,28 mg/kg de poids vif/jour.

Régime (JN) : C'est le régime témoin présenté après 18 heures de jeûne/jour.

Régime (DLM/PC) : Est la combinaison entre le régime (PC) avec le régime (DLM).

Régime (DLM/JN) : Est la combinaison entre le régime (JN) avec le régime (DLM).

Après une période d'acclimatation de deux semaines durant laquelle tous les rats sont soumis à un régime témoin, nous avons procédé à la répartition de ces derniers en six groupes différents ; 6 animaux chacun. Durant la période expérimentale, chaque groupe a été nourri avec l'un des régimes illustrés dans la figure 4.7 qui suit :

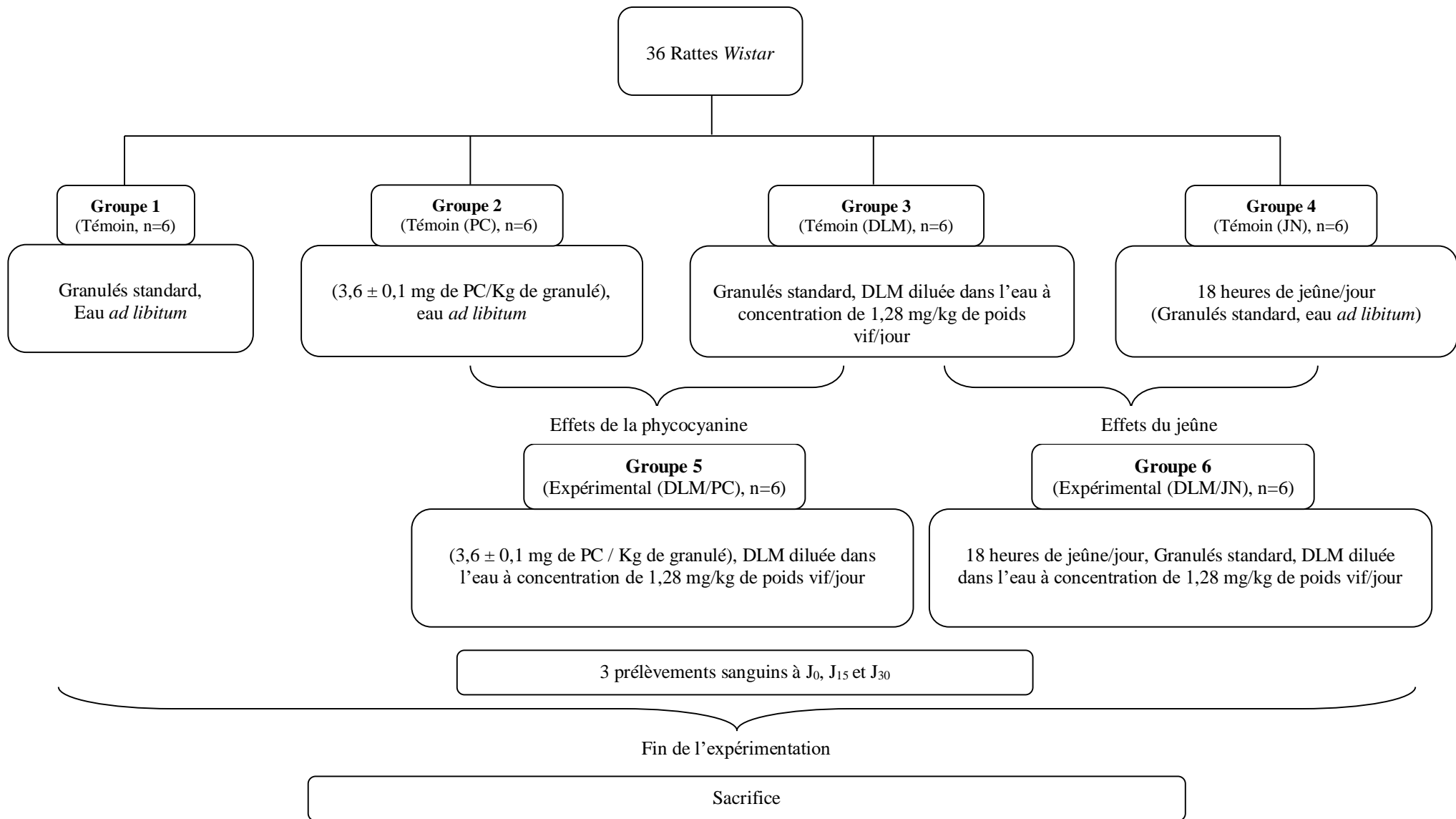


Figure 4.7 : Déroulement de l'expérimental

VI. Collecte de sang et analyses biochimiques

Les échantillons de sang ont été collectés du plexus rétro-orbitaire tous les 15 jours suite à un jeûne d'environ 18 h. Le sang a été centrifugé à 3500 tr / min pendant 15 min à température ambiante. Le plasma a été stocké dans des tubes secs à – 20 °C jusqu'à réalisation des dosages biochimiques.

Nous avons suivi le taux sérique des transaminases L-aspartate : 2 oxoglutarate Aminotransférase (ASAT), l'alanine amino-transférase (ALAT) ainsi que les protéines sériques totales afin d'avoir une indication sur le degré d'atteinte tissulaire des trois organes ciblés à savoir : le foie, les reins et le cœur, à l'aide d'un automate d'analyse ADVIA (ADVIA 1800 Chemistry System de marque SIEMENS) basé sur la méthode photométrique.

VII. Collecte d'organes

A la fin de la période expérimentale, les animaux ont été soumis au jeûne pendant près de 18 h puis sacrifiés par dislocation cervicale. Après dissection (fig 4.8), les organes (foie, cœur et reins) ont été fixés dans du formol tamponné à 10% (formaldéhyde 4% p / v, tampon phosphate 0,1 M, pH 7,2) en vue de leur analyse histologique.

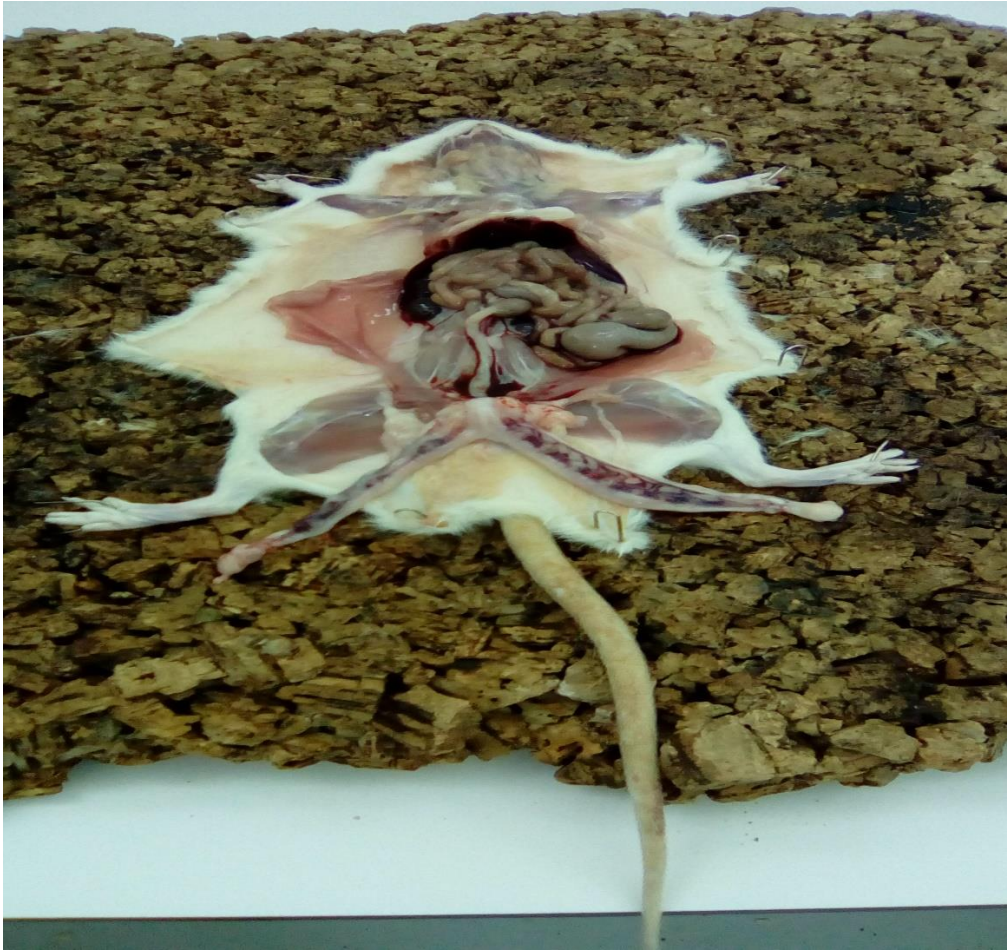


Figure 4.8 : Dissection des rattes à la fin de la période expérimentale (**photo original**).

VII.1. Préparation tissulaire et examen histopathologique

Les tissus fixés ont été inclus dans de la paraffine, coupés en sections de 3 μm puis colorés à l'hématoxyline/éosine (**Martoja & Martoja., 1967**) par la suite examinés au microscope optique (OLYMPUS CORPORATION MODEL CX23LEDRFS1).

Ces coupes ont été réalisées au niveau du laboratoire de cytologie et de pathologie vétérinaire de l'institut Pasteur d'Alger annexe de ruisseau.

Après mise des fragments de tissus à analyser à l'intérieur des cassettes on prépare les coupes en suivant les étapes ci-dessous :

VII.1.1. Déshydratation / inclusion :

VII.1.1.1. Déshydratation : c'est une succession de 3 bains d'alcool à degré croissant

- Alcool 1 (75°) : 1heure
- Alcool 2 (95°) : 30 min
- Alcool 3 (100°) : 30 min

Eclaircissement : c'est une succession de 3 bains de xylène afin de perfuser de façon homogène tous les prélèvements

- Xylène 1 : 2 heures
- Xylène 2 : 2 heures
- Xylène 3 : 1 heures

Imprégnation : comporte 2 bains de paraffine à 56°

- Paraffine 1 : 1 minute
- Paraffine 2 : 1 heure

VII.1.1.2. Inclusion en paraffine :

- Ouvrir les cassettes
- Enlever le couvercle en poussant vers le haut
- Mettre les fragments dans les moules métalliques
- Enrober les fragments de paraffine liquide.
- Laisser refroidir à -20 c°.

Microtomie :

- Eliminer l'excès de paraffine à l'aide d'un couteau.
- Fixer le bloc sur le microtome.
- Dégrossir le bloc a 20 µm puis 10 µm jusqu'à l'apparition de l'empreinte du fragment
- Couper un ruban de 3 µm
- Poser le ruban dans un bain marie à 45°, l'étaler sur les lames puis laisser sécher dans une étuve à 65 ° pendant 2 heures minimum.

Coloration :

Avant coloration histologique :

- Placer les lames 2h à l'étuve à 56°C pour une meilleure adhésion des coupes sur les lames
- Déparaffiner les lames par deux bains de xylène pendant 20 min chacun
- Réhydratation des lames par deux bains d'alcool pendant 5 min chacun
- Rincer à l'eau courante

Hématoxyline Eosine :

- Filtrer l'hématoxyline sur papier filtre pour éliminer les dépôts
- Coloration des lames à l'hématoxyline de Harris pendant 30 secondes
- Rinçage à l'eau courante jusqu'à ce que l'eau devienne claire
- Coloration des lames à l'EOSINE pendant 1 min
- Rinçage à l'eau courante jusqu'à ce que l'eau devienne claire
- Tremper les lames rapidement dans l'Alcool 90°
- Laisser sécher à l'air

Montage des lames

- Mettre une goutte d'Eukitt à l'aide d'une pipette pasteur sur la lame colorée
- Tremper la lamelle dans le xylène
- Déposer la lamelle sur la lame et laisser sécher
- Ecrire le code « d'identification » sur les lames à l'aide d'un marqueur à pointe fine

VIII. Analyses statistiques et traitement de données

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type. Les analyses statistiques des données ont été réalisées en utilisant le Logiciel Microsoft Excel (Microsoft Excel 2013). Les tests statistiques de signification entre les moyennes par le Test de Student d'ANOVA (t-test).

CHAPITRE 3 :
RESULTATS
&
DISCUSSION

Résultats et discussion :

I. Détermination de la pureté de la C-phycoyanine :

Après les différentes étapes d'extraction et de purification de la PC à partir de la spiruline. L'évaluation de la pureté de la C-PC de notre échantillon est basée sur l'évaluation du ratio entre les absorbances des phycocyanobilines à 620 nm (A_{620}) et celle des acides aminés aromatiques des protéines totales de l'échantillon à 280 nm (A_{280}) (**Kuddus et al.**, 2013). Le degré de pureté calculé obtenu est de $0,15 \pm 0,04$, inférieur à 0,7 selon la formule présentée par **Jiang et al.**, 2017 (A_{620}/A_{280} (**0,15**) $\leq 0,7$), la C-PC est considérée de qualité alimentaire.

Après détermination du degré de pureté de la C-phycoyanine nous avons procédé à l'estimation des différents phycobiliprotéines qui composent nos extraits.

II. Estimation des phycobiliprotéines

Après avoir évalué les principaux composants antioxydants des phycobiliprotéines extraits à partir de la spiruline (**Aissaoui et al.**, 2017), Les valeurs obtenues pour C-PC, APC et PE étaient de **0,06 ± 0,02**, $0,03 \pm 0,00$ et $0,01 \pm 0,00$ mg/mL respectivement.

Nous remarquons que la majeure partie de nos phycobiliprotéines est composée de C-phycoyanine avec un taux de $0,06 \pm 0,02$ mg/mL. Ces résultats sont en adéquation avec les travaux de **Lafri et al.**, 2017 qui ont évalué différentes méthodes d'extraction de la phycocyanine à partir de la même souche de spiruline que la nôtre dénommée « BEHATAM » et qui ont obtenu une concentration en phycocyanine qui varie selon la méthode d'extraction entre 0,06 à 0,39 mg/mL.

III. Evaluation de l'activité biologique des extraits de phycocyanine

III.1. L'activité antioxydante

Les articles scientifiques qui traitent l'évaluation des activités antioxydantes de la phycocyanine de grade (qualité) alimentaire utilisent généralement cette dernière à un degré de

pureté supérieur à 0,4 de phycocyanine (**Bermejo *et al.*, 2008 ; Wu *et al.*, 2016 ; Kaur *et al.*, 2019**). L'objectif de notre étude est d'apprécier l'activité antioxydante de la phycocyanine à un degré de pureté très faible afin d'estimer sa puissance antioxydante, pour ce faire nous avons utilisé deux extraits de phycocyanine à différent degré de pureté à savoir : extrait (1) à 0,13 et l'extrait (2) à 0,14 (fig 5.1).

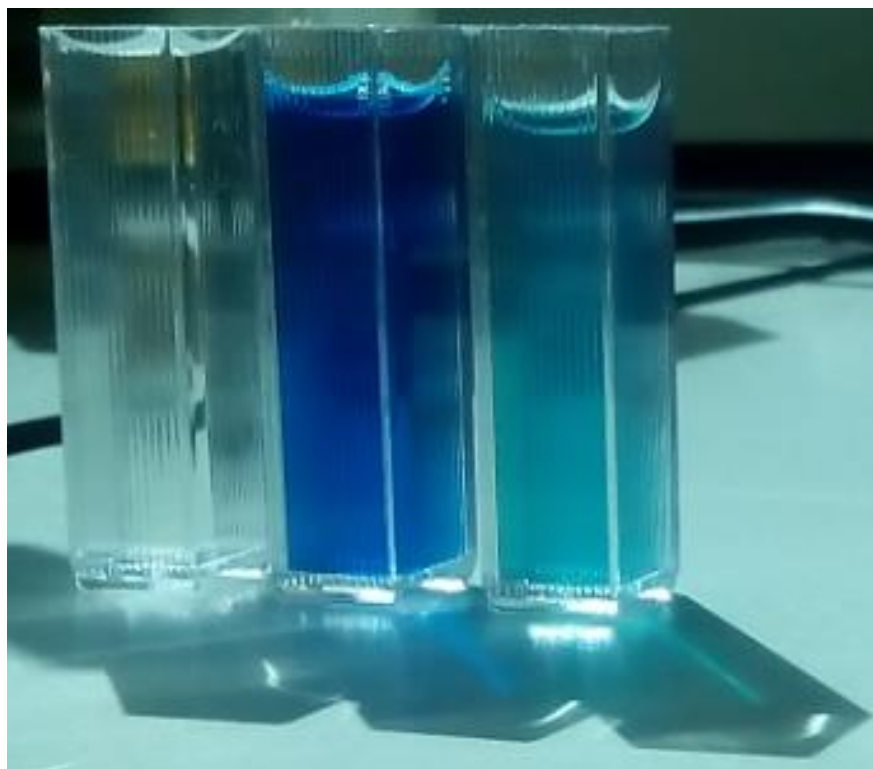


Figure 5.1 : Deux extraits de phycocyanine de pureté différente (plus la couleur est intense plus l'extrait est pur) (**photo original**).

La différence des puretés de nos extraits est utilisée afin de rechercher la présence d'activité antioxydante à pureté dépendante.

III.1.1. Dosage de l'activité antiradicalaire par le test DPPH

Les antioxydants font un don d'électron ou d'hydrogène pour réduire le radical stable DPPH en DPPH-H, forme non-radicalaire. La réduction peut être visualisée par changement de couleur de violet au jaune (Figure 5.2) et la capacité de réduction du radical DPPH est déterminée par la diminution de l'absorbance à la longueur d'onde de 517 nm (**Renugadevi *et al.*, 2018**).

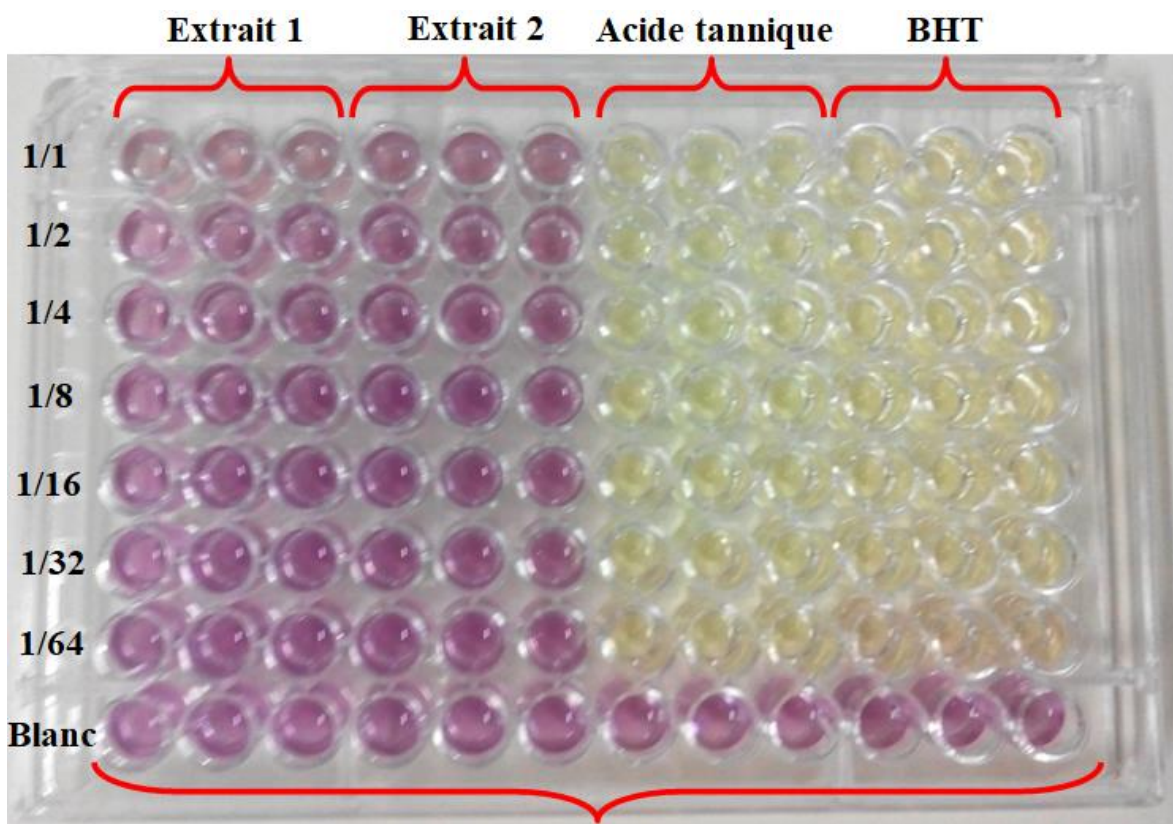


Figure 5.2 : Schéma de la plaque de dosage de l'activité anti radicalaire (DPPH)

Les standards utilisés sont l'acide tannique et le BHT. Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe de pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des extraits et des standards (Figure 5.3).

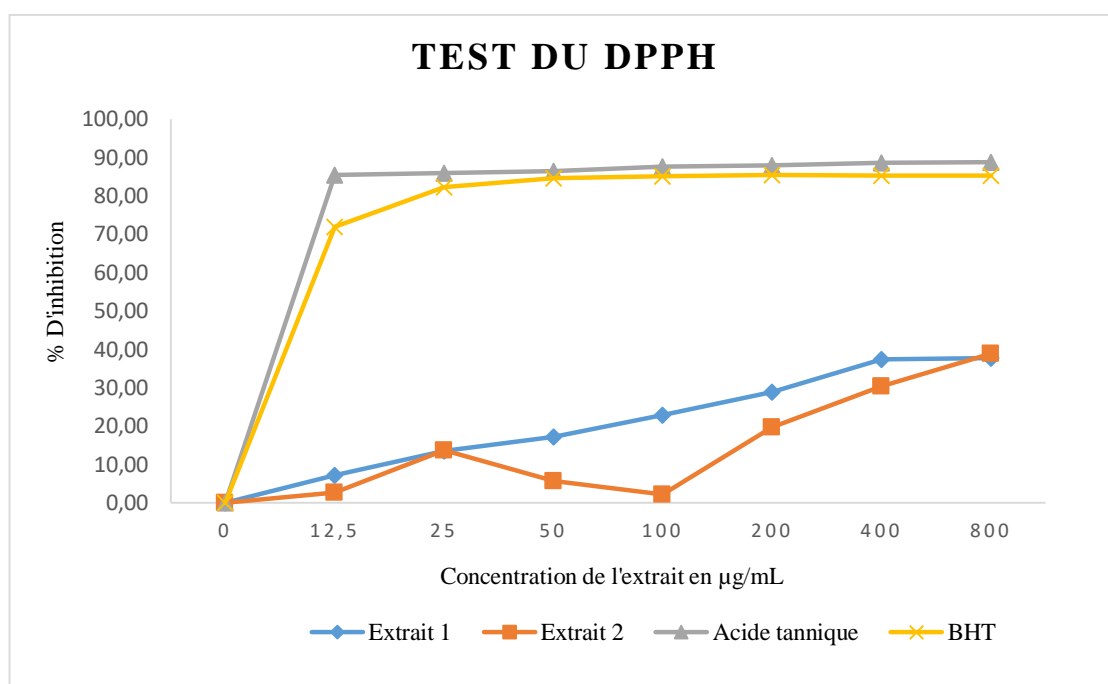


Figure 5.3 : Courbe de pourcentage d'inhibition du DPPH par deux extraits de spiruline.

Nos extraits 1 et 2 de la phycocyanine ont montré une augmentation d'activité à mesure que leurs concentrations augmentaient, ce qui signifie qu'ils possèdent une activité antiradicalaire dose dépendante.

Le pourcentage d'inhibition de la phycocyanine était maximal à une concentration de 800 µg / mL avec 37,75% d'inhibition pour l'extrait 1 et 38,94% d'inhibition pour l'extrait 2 (Fig. 5.3). En revanche nos standards (acide tannique, BHT) ont eu une activité inhibitrice maximale de 85,29 et 88,73% respectivement pour le BHT et l'acide tannique à concentration de 800 µg / mL. Une activité inhibitrice minimale de 7,13 % pour l'extrait 1 et 2,75 % pour l'extrait 2 ont été notées à concentration minimale testée de 12,5 µg / mL tandis qu'à la même concentration nous avons enregistré une activité inhibitrice de 71,91 et 85,40 % pour le BHT et l'acide tannique respectivement.

➤ Discussion des résultats

L'activité antioxydante est la même pour les deux extraits avec une légère augmentation pour l'extrait 2 qui représente un degré de pureté légèrement plus élevé que celui de l'extrait 1, mais elle demeure modérée par rapport à nos standards.

Safari *et al.*, 2017 dans leur étude démontrent que la phycocyanine à un degré de pureté de 1,13 possède une activité antioxydante de 45,75% et déclarent que ces résultats confirment que le C-PC est un puissant piègeur de radicaux libres et inhibe les peroxydations lipidiques.

Jerley and Prabu., 2017 ont obtenu dans leur étude une activité antioxydante de la phycocyanine égale à 25,21% et concluent que ce pigment microbien est un puissant piègeur de radicaux libres des groupes hydroxyle et peroxyde et pourrait inhiber la peroxydation lipidique microsomale.

L'activité antioxydante de la phycocyanine s'explique par sa capacité à réagir avec le DPPH, qui est un radical azoté avec une absorption caractéristique à 517 nm et le convertir en molécule diamagnétique stable 1,1, dipényl-picryl hydrazine, en raison de sa capacité de don d'hydrogène à un rythme rapide (**Jerley and Prabu., 2017**).

Chentir *et al.*, 2018(a) ont démontré que l'activité antiradicalaire DPPH de la phycocyanine était dose dépendante car plus la dose de phycocyanine augmente plus l'activité antiradicalaire devient plus puissante.

III.1.2. Test de Blanchissement de la Béta-carotène

Dans le test de blanchiment du β -carotène, l'acide linoléique produit des hydroperoxydes sous forme de radicaux libres (pendant l'incubation à 45 ° C) qui attaquent le β -carotène et ayant comme résultat le blanchiment de cette dernière et la disparition de sa couleur orange qui est mesurée spectrophotométriquement à 470 nm. Cependant la présence d'antioxydants dans l'extrait minimisera l'oxydation de β -carotène par les hydroperoxydes (**Kubola &**

Siriamornpun., 2008). Les hydroperoxydes formés dans ce système seront neutralisés par les antioxydants des extraits.

Les courbes de la cinétique de blanchiments du β -Carotène en fonction du temps ont permis de mettre en évidence la propriété antioxydante des échantillons ainsi que des standards (Figure 5.4).

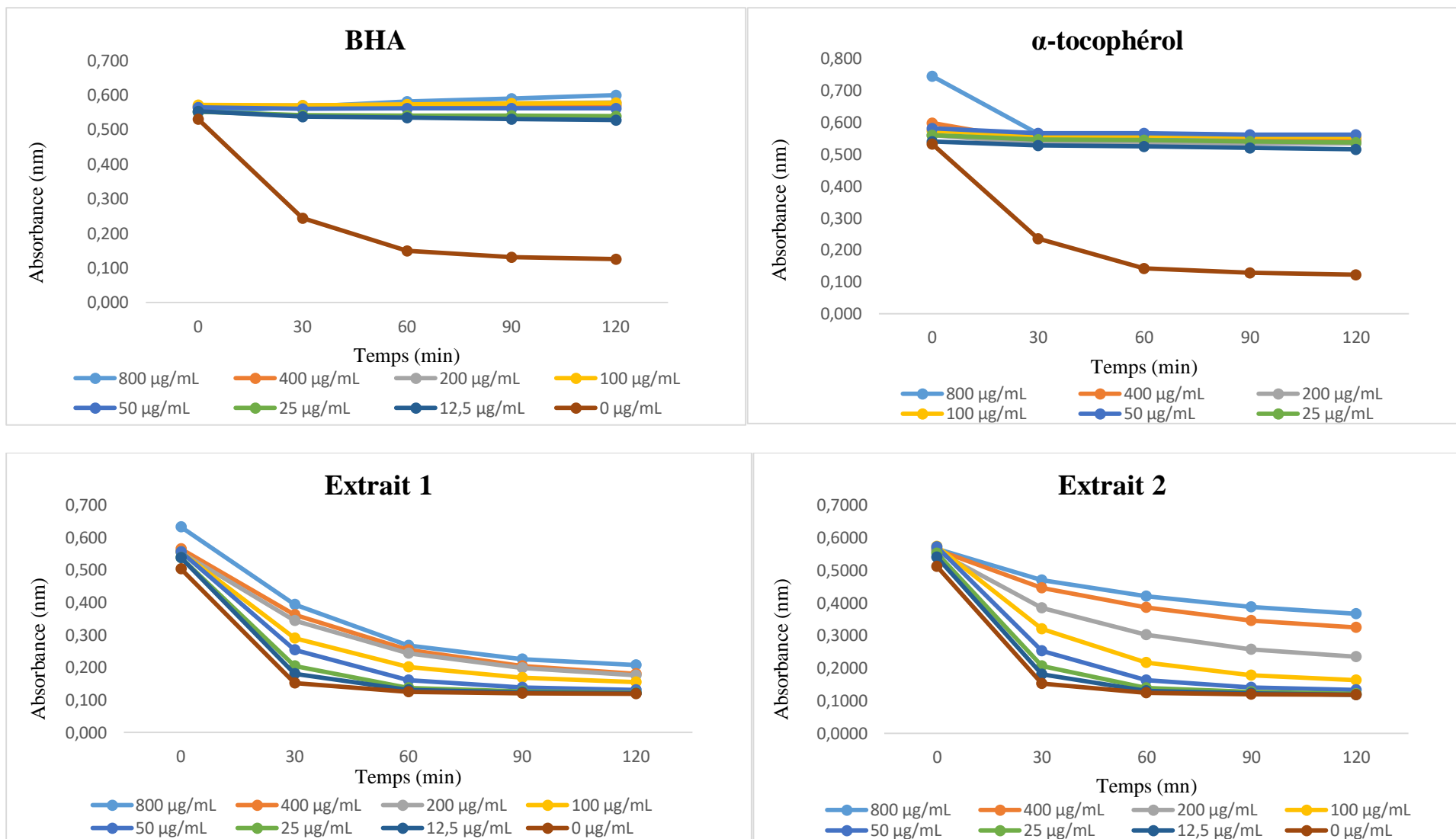


Figure 5.4 : Suivi de la cinétique des différents échantillons testés.

D'après la figure 5.4 nous remarquons que plus la concentration des extraits augmente plus l'absorbance se fait dans une longueur d'onde supérieure reflétant l'intensité de la couleur du β -carotène (fig. 5.5).

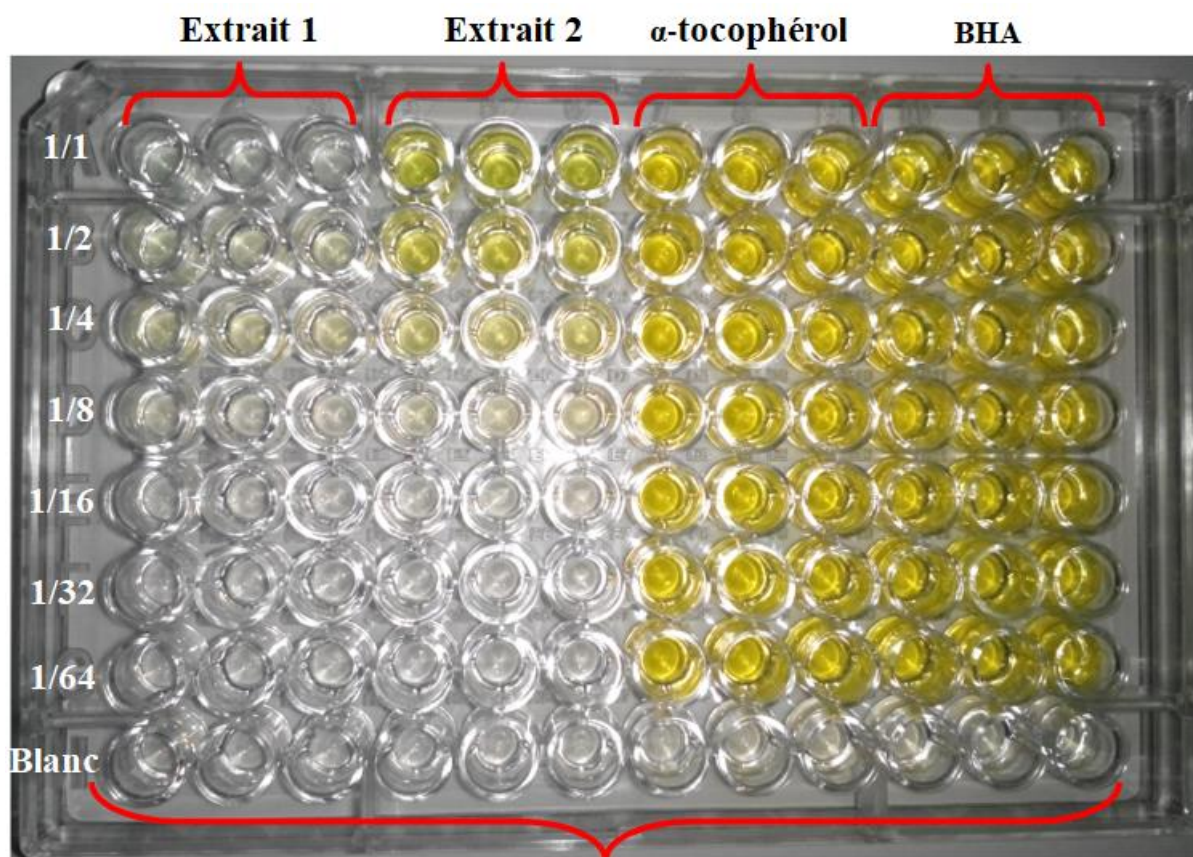


Figure 5.5 : Schéma de la plaque de dosage de l'activité anti radicalaire (Teste de blanchiment du β -Carotène)

Dans la figure 5.5 nous remarquons clairement que l'extrait 2 possède une activité antiradicalaire plus puissante que celle de l'extrait 1 et cela par l'intensité de la couleur au niveau des concentrations 800, 400 et 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$. La présence d'antioxydants dans nos extraits minimise l'oxydation du β -carotène par les hydroperoxydes qui causent le blanchiment de cette dernière et la disparition de sa couleur orange.

D'après la figure 5.6 qui suit nous remarquons que nos extraits présentent une activité antiradicalaire dose et pureté dépendante, c'est-à-dire que plus la dose de nos extraits augmente plus l'activité antiradicalaire augmente, idem pour la pureté. Le pourcentage d'inhibition de la phycocyanine était maximal à une concentration de 800 $\mu\text{g} / \text{mL}$ avec 22,96% d'inhibition pour l'extrait 1 et 63,14% d'inhibition pour l'extrait 2. Une activité inhibitrice minimale de 3,17 % pour l'extrait 1 et 3,97 % pour l'extrait 2 ont été notées à la concentration minimale testée de 50 $\mu\text{g} / \text{mL}$. En revanche les standards (α -tocophérol et le BHA) ont une puissante activité inhibitrice dépassant 95% pour une concentration de 12,5 $\mu\text{g} / \text{mL}$.

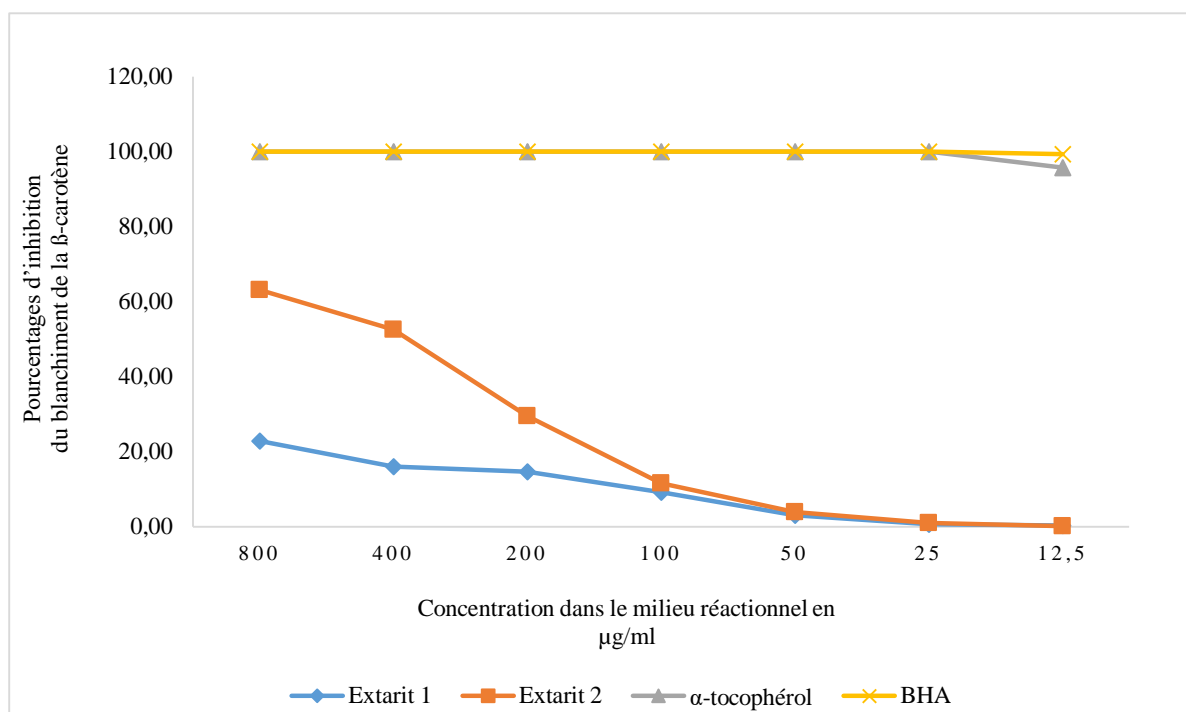


Figure 5.6 : Suivi de la cinétique des pourcentages d'inhibitions des extraits en fonction de leurs concentrations dans le milieu réactionnel

➤ Discussion des résultats

Les antioxydants minimisent l'oxydation des composants lipidiques dans les membranes cellulaires ou inhibent les composés organiques volatils et les hydroperoxydes de diènes conjugués, issus de l'oxydation de l'acide linoléique, qui sont connus pour être cancérigènes (Tepe *et al.*,2005). Ce test mesure l'activité antioxydante vers les ROS générées par l'acide

linoléique par rapport au β -carotène. Celui-ci n'est pas affecté s'il y a présence d'un antioxydant puissant dans nos extraits. Dans ce cas, la solution doit conserver la même couleur initiale, ce qui signifie que le β -carotène n'était pas nécessaire pour empêcher l'oxydation de l'acide linoléique car l'antioxydant présent dans l'extrait a pu le faire (**Ferreira *et al.*, 2006**).

A partir des courbes de cinétique de blanchissement du β -carotène on peut noter que nos extraits exercent un effet préventif contre l'oxydation du β -carotène par les radicaux hydroperoxydes, cependant l'extrait 2 (qui possède un degré de pureté supérieur de la phycocyanine) présente une meilleure activité antioxydante par rapport à l'extrait 1.

Nos résultats sont en adéquation avec les travaux de **Chentir *et al.*, 2018(b)** qui ont démontrés que l'extrait brute de phycocyanine de qualité réactive présentait des effets dose-dépendants et une capacité modérée à inhiber l'oxydation du β -carotène avec $63,28 \pm 3,71\%$ à la concentration de 5 mg /mL.

III.1.3. Test de chélation des ions métalliques

Les stratégies pour contrôler les dommages des radicaux libres médiés par le fer pourraient être de : prévenir les conditions qui peuvent conduire à une surcharge en fer ; fournir des substances chélatantes qui séquestrent l'excès de fer ; protéger les molécules fonctionnelles (lipides, protéines, ADN) de l'oxydation par l'utilisation d'antioxydants alimentaires (vitamines, etc.) (**Bermejo-Bescós *et al.*, 2008**).

La Figure 5.7 présente la cinétique de chélation de nos extraits 1 et 2 avec celle de notre standard EDTA. L'extrait 2 s'est révélé capable de chélater les ions métalliques mais demeure moins active que l'EDTA avec un pourcentage de chélation de 45,12 et 93,83 % respectivement pour la concentration de 800 μ g/ml.

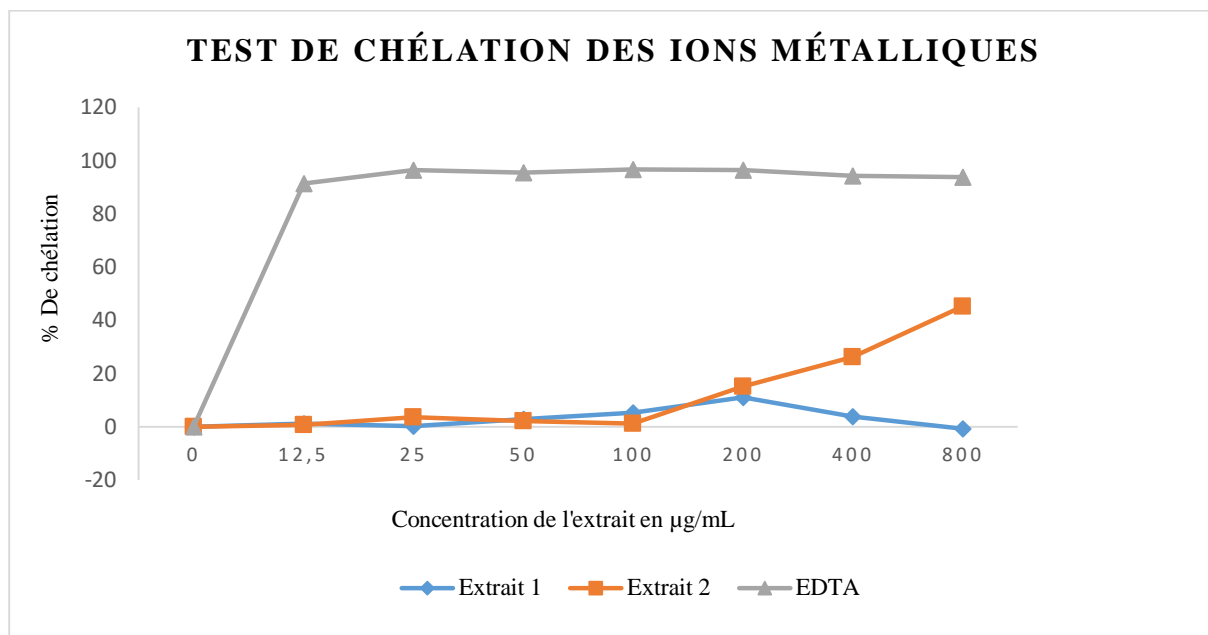


Figure 5.7 : Suivi de la cinétique des pourcentages d'initiations des extraits en fonction de leurs concentrations dans le milieu réactionnel

Discussion des résultats

Les ions métalliques sont connus pour être des précurseurs de la peroxydation lipidique qui peut conduire à la fois à la génération de radicaux libres et à la production de radicaux peroxydes lipidiques (**Chentir et al., 2018(a)**), cependant, lors de la chélation, leur capacité de réaction oxydante peut efficacement être arrêtée (**Chentir et al., 2018(b)**).

Bermejo et al., 2008 ont démontré que la phycocyanine avait une activité de chélation des métaux et cela à travers la diminution maximale de l'émission du spectre de fluorescence en présence d'ions de fer.

Dans leurs travaux **Chentir et al., 2018(b)** il a été démontré que l'extrait brute de phycocyanine de qualité réactive présentait une activité chélatante de manière dose-dépendante atteignant 78% à concentration de 5 mg /mL.

Malgré le très faible degré de pureté de nos extraits, ces derniers présentaient une activité antioxydante *in vitro* modérée. **Yabuta et al** ont démontré que la digestion gastro-intestinale chez les mammifères de l'apoprotéine de phycoérythrine libère des composés de

phycoérythrobiline (chromophore de la protéine pigmentaire) à capacité d'élimination des radicaux peroxy 2,7 fois supérieure que celle des extraits d'algues, et indiquent que les diverses activités thérapeutiques de la phycoérythrine semblent être associées au composé de phycoérythrobiline libéré lors de la digestion gastro-intestinale des mammifères (Yabuta *et al.*, 2010). Ce qui nous permet de prévoir l'obtention d'effets antioxydants remarquable de la PC lors de l'expérimentation *in vivo*.

IV. Expérimentation animale

Afin d'étudier les effets d'une faible dose de la phycocyanine sur des rats traités par la DLM nous avons incorporé cette dernière dans la formule des granulés standard à raison de $3,6 \pm 0,1$ mg de PC/Kg de granulé (fig. 5.8).

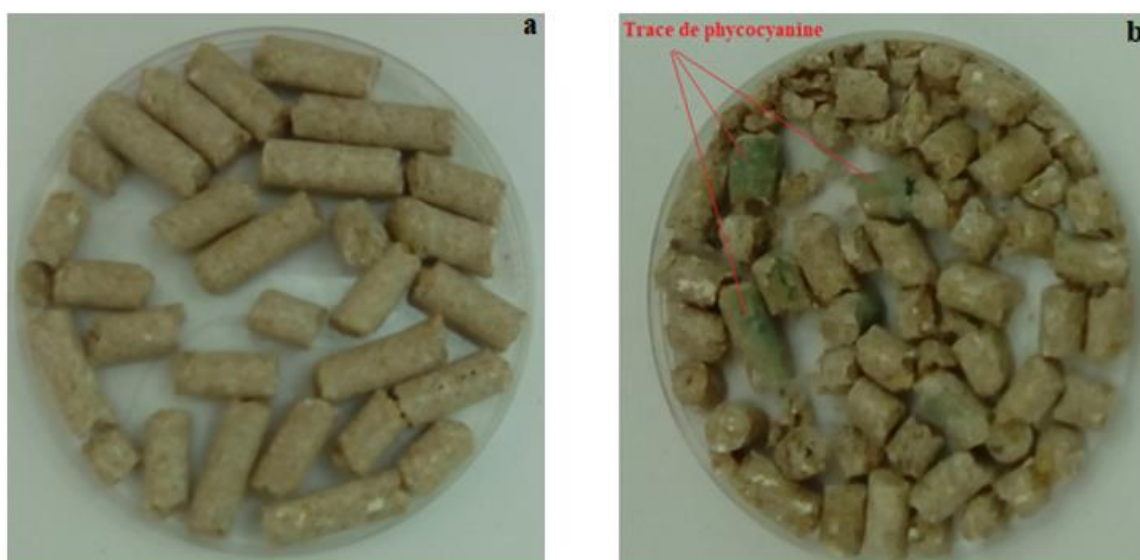


Figure 5.8: a : granulés standards, b : granulés enrichis avec de la PC (photo original).

IV.1. Effet de la phycocyanine et du jeûne sur le gain de poids des animaux traités par la déltamethrine

A la fin de la période expérimentale, nous avons enregistré un gain de poids de $186,83 \pm 9,53$ g chez les rats du lot contrôle. En revanche un retard de croissance significatif est relevé chez les rats ayant ingéré la déltamethrine à raison de 1,28 mg/kg de poids vif/jour qui

est de l'ordre de 5,34 % (groupe DLM). L'ingestion de la phycocyanine à raison de $3,6 \pm 0,1$ mg de PC/Kg de granulé n'a eu aucun effet sur le retard de croissance chez les rats traités par la DLM, ayant enregistré un taux de retard de croissance significatif similaire à celui du groupe DLM qui est de l'ordre de 5,63% (groupe DLM/PC) (tableau5.1).

Nos résultats sont en accord avec les travaux de **Raushan *et al.*,1996** et **Chargui *et al.*, 2012** qui ont exposé des rats à des concentrations de deltaméthrine allant de 0,3 jusqu'à 7 mg mg/kg de poids vif/jour. Ces travaux ont montré une diminution significative du poids corporel des rats causée par la deltaméthrine.

Tableau 5.1. Effet de la DLM de la PC et du jeûne sur l'évolution pondérale des rats durant la période expérimentale

Paramètre	Croupes					
	Contrôle	PC	DLM	JN	DLM/PC	DLM/JN
	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6
Poids (g)	186,83±9,53	194,79±22,67	176,85±25,52**	188,56±9,52	176,30±18,93**	183,25±25,28

Les valeurs sont représentées en moyenne± écart type. **P ≤0,05

Nous avons enregistré une chute de poids hautement significative chez le groupe traité à la DLM et soumis au jeûne (groupe DLM/JN) après 15 jours de traitement avec un retard de croissance estimé à 20,08 % par rapport au groupe contrôle, néanmoins la courbe du groupe DLM/JN présente une allure ascendante qui se rapproche le mieux à celle du groupe contrôle en comparaison avec le groupe DLM/PC après la première quinzaine de traitement (figure 5.9), ce qui signifie que le jeûne a eu un meilleur effet que la phycocyanine sur le gain de poids chez les rats traités par la DLM.

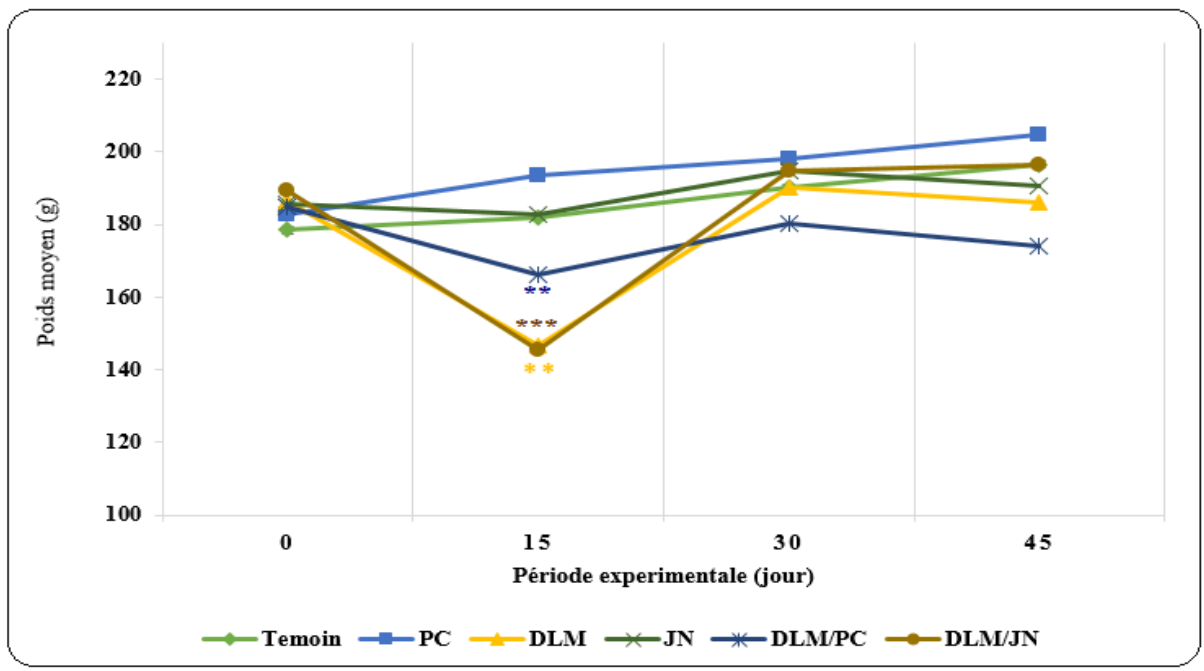


Figure 5.9: Effets de la dèltaméthrine, de la phycocyanine et du jeûne sur le poids corporel du rat.

D'après les travaux de **Björntorp & Yang., 1982**, une chute de poids est observée après avoir mis à jeun des rats adultes pendant 65 h, puis après une ré-alimentation à volonté pendant 8 jours période pendant laquelle le poids corporel est revenu au niveau des témoins non à jeun.

Björntorp & Yang., 1982 expliquent qu'au cours de la réalimentation, l'apport alimentaire quotidien a été modérément augmenté au-dessus des niveaux témoins. Cette augmentation compensatoire après le jeûne a ramené la consommation totale pour toute la période au même niveau que pour les contrôles. Ainsi, une plus grande augmentation de poids corporel par gramme d'aliment consommé (« efficacité alimentaire ») a été obtenue pendant la période de réalimentation. Les processus de conservation de l'énergie induits par la famine semblaient donc persister pendant la réalimentation.

IV.2. Effet de la phycocyanine sur les animaux traités par la déltamethrine

IV.2.1. Effet de la phycocyanine sur les marqueurs biochimiques

Les données relatives aux taux des transaminases et des protéines totales dans le sérum des rats expérimentaux sont présentées dans tableaux 5.2 ci-dessous :

Tableau 5.2. Effet de la DLM et / ou de la PC sur le taux des transaminases sériques et des protéines totales chez le rat

Paramètres	Croupes			
	Contrôle	PC	DLM	DLM/PC
	n=6	n=6	n=6	n=6
ASAT (UI/L)	148,05±28,97	155,86±42,42	195,35 ±54,74 ^{***}	161,47±33,62 ^{**}
ALAT (UI/L)	46,55±7,52	55,62±9,77 ^{***}	43,22±14,05	47,94±14,67
PT (g/L)	76,17±8,48	74,70±5,54	73,94±8,07 ^{***}	75,58±5,85

Les valeurs sont représentées en moyenne± écart type. ^{***}P ≤0,01

Les valeurs (moyennes ± SD ; n = 6) ne portant pas le même exposant sont significativement différents à (P ≤0,01).

L'administration de la DLM à concentration de 1,28 mg/kg de poids vif/jour a causé une augmentation très hautement significative (P≤0,01) de la concentration sérique en ASAT (groupe DLM) de l'ordre de 195,35 ±54,74 (UI/L) en comparaison avec le groupe témoin qui a enregistré une concentration de 148,05±28,97 (UI/L). L'addition de la PC au régime alimentaire des rats traités à la DLM (groupe DLM/PC) a eu un effet significatif sur la baisse de la concentration de l'ASAT sérique à raison de 161,47±33,62 (UI/L) en comparaison avec le groupe DLM et cela après six semaines de traitement (fig. 5.10).

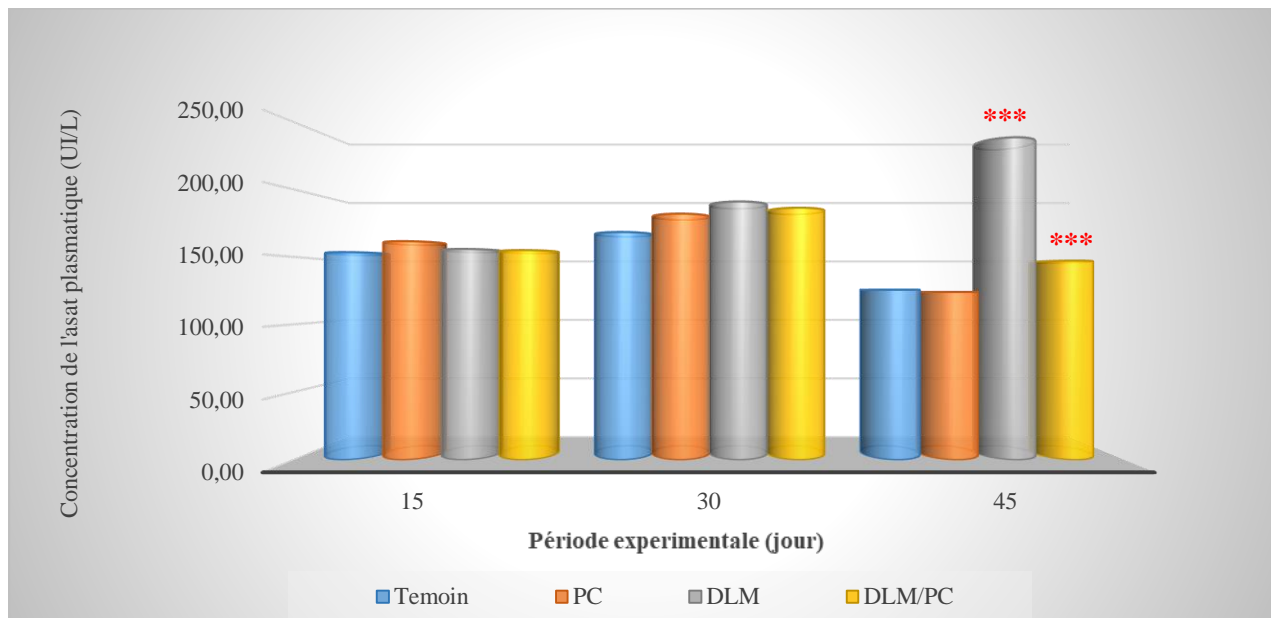


Figure 5.10: Comparaison des concentrations de l'ASAT sérique (UI/L) chez les groupes de rats femelles traitées avec le régime PC, DLM et DLM/PC et le groupe témoin.

Aucun changement significatif n'a été observé chez les rats traités à la DLM sur la concentration de l'ALAT sérique.

Le groupe traité à la DLM a vu sa concentration en protéines totales sériques baisser de manière très hautement significative ($P \leq 0,01$) jusqu'à atteindre $73,94 \pm 8,07$ (g/L) en comparaison avec le groupe témoin (contrôle) qui a enregistré une concentration de $76,17 \pm 8,48$ (g/L) et cela après six semaines de traitement (fig. 5.11). L'addition de la PC au régime alimentaire des rats traités à la DLM (groupe DLM/PC) a eu un faible effet (non significative) sur l'augmentation de la concentration en protéines totales à raison de $75,58 \pm 5,85$ (g/L) en comparaison avec le groupe DLM (fig. 5.11).

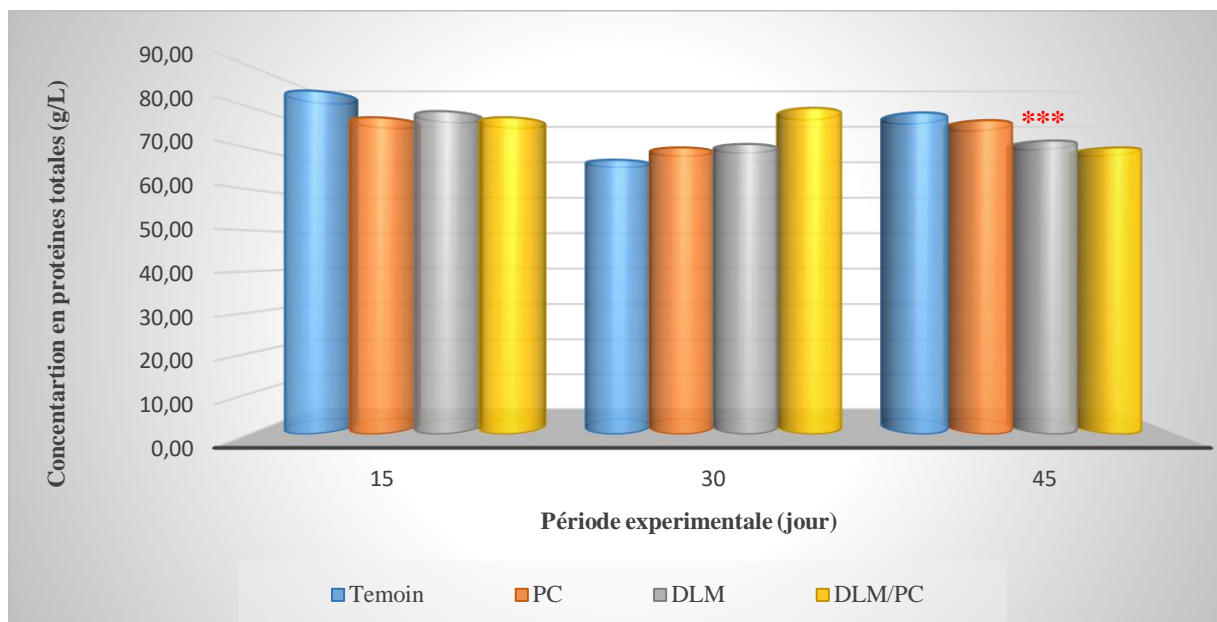


Figure 5.11 : Comparaison des concentrations des protéines sériques totales (g/L) chez les groupes de rats femelles traitées avec le régime PC, DLM et DLM/PC et le groupe témoin.

IV.2.2. Effet de la phycocyanine sur l'histologie de quelques organes vitaux

L'intoxication sub-aiguë causée par la deltaméthrine ainsi que les effets préventifs de la phycocyanine ont été évalués à partir des coupes histologiques au niveau du foie, des reins et du cœur.

IV.2.2.1. Effets hépato-protecteurs de la phycocyanine chez le rat traité par la DLM

Le foie des rattes intoxiquées par la DLM présente une dégénérescence hépatocytaire péri vasculaire à localisation principalement centrolobulaire (fig.5.12 (d)), ainsi qu'une inflammation périportale de type lymphoplasmocytaire (fig.5.12 (b)). Par ailleurs, nous observons la présence de foyers inflammatoires intra parenchymateux mixtes composés de lymphocytes, d'histiocytes et de quelques polynucléaires neutrophiles (fig.5 (c)), ainsi que la présence de cellules inflammatoires au niveau des sinusoides (lymphocytes et polynucléaires neutrophiles essentiellement) (fig.5.12 (b, c)). L'ingestion de la phycocyanine diminue de manière remarquable l'intensité et la distribution de la dégénérescence hépatocytaire ainsi que l'intensité et la distribution de l'inflammation (fig.5.12 (e)).

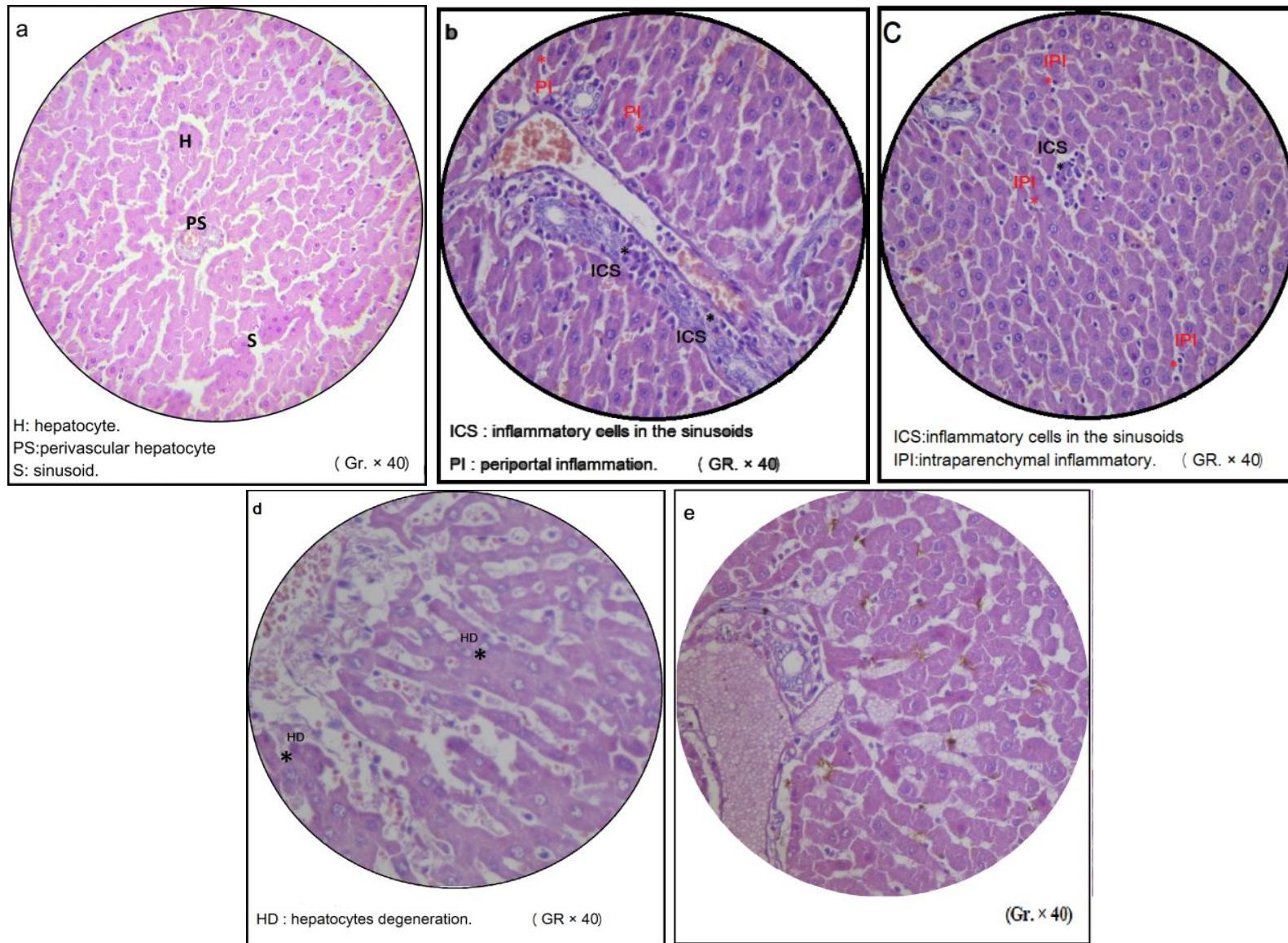


Figure 5.12: Effets de la phycocyanine sur l'hépatotoxicité causée par la DLM

IV.2.2.2. Effets néphroprotecteurs de la phycocyanine chez le rat traité par la DLM

Le rein du témoin DLM présente une dégénérescence des cellules épithéliales tubulaires (tubes contournés proximaux et distaux) (fig.5.13 (c, d, e)), une hyperplasie des cellules mésangiales (fig.5.13 (b)), ainsi qu'une rétraction glomérulaire multifocale (fig.5.13 (c, e)). Marqué par une diminution de la fréquence et de l'intensité de la rétraction glomérulaire, le tissu rénal du groupe DLM/PC (fig.5.13 (f)) présente ainsi un aspect proche de ceux du témoin négatif (fig.5.13 (a)). Il met en exergue aussi la diminution de l'intensité de l'hyperplasie des cellules mésangiales, et une légère diminution de l'intensité de la dégénérescence épithéliale tubulaire comparativement au témoin DLM (figure. 5.13).

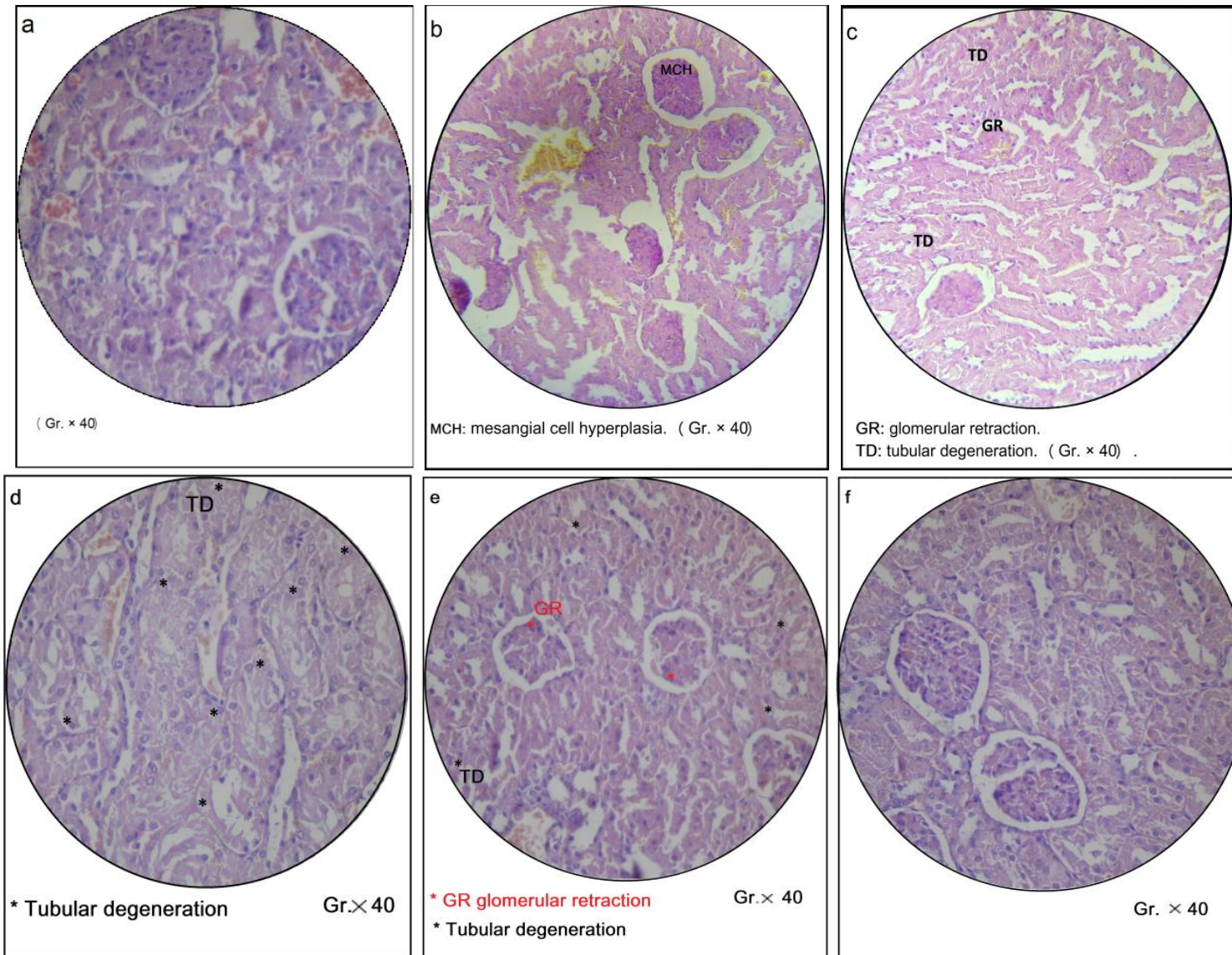


Figure 5.13: Effets de la phycocyanine sur la néphrotoxicité causée par la DLM

IV.2.2.3. Effets cardioprotecteurs de la phycocyanine chez le rat traité par la DLM

Le tissu cardiaque du témoin DLM est caractérisé par la présence de microhémorragies interstitielles, ainsi qu'une dégénérescence des fibres musculaires cardiaques (fig.5.14 (b, c, d)). Comparativement au témoin DLM, le tissu cardiaque du groupe DLM/PC montre la persistance des microhémorragies interstitielles avec cependant une diminution dans l'intensité et la distribution (fig.5.14 (e)), ainsi que de l'intensité et la distribution de la dégénérescence des fibres musculaires cardiaques (figure. 5.14).

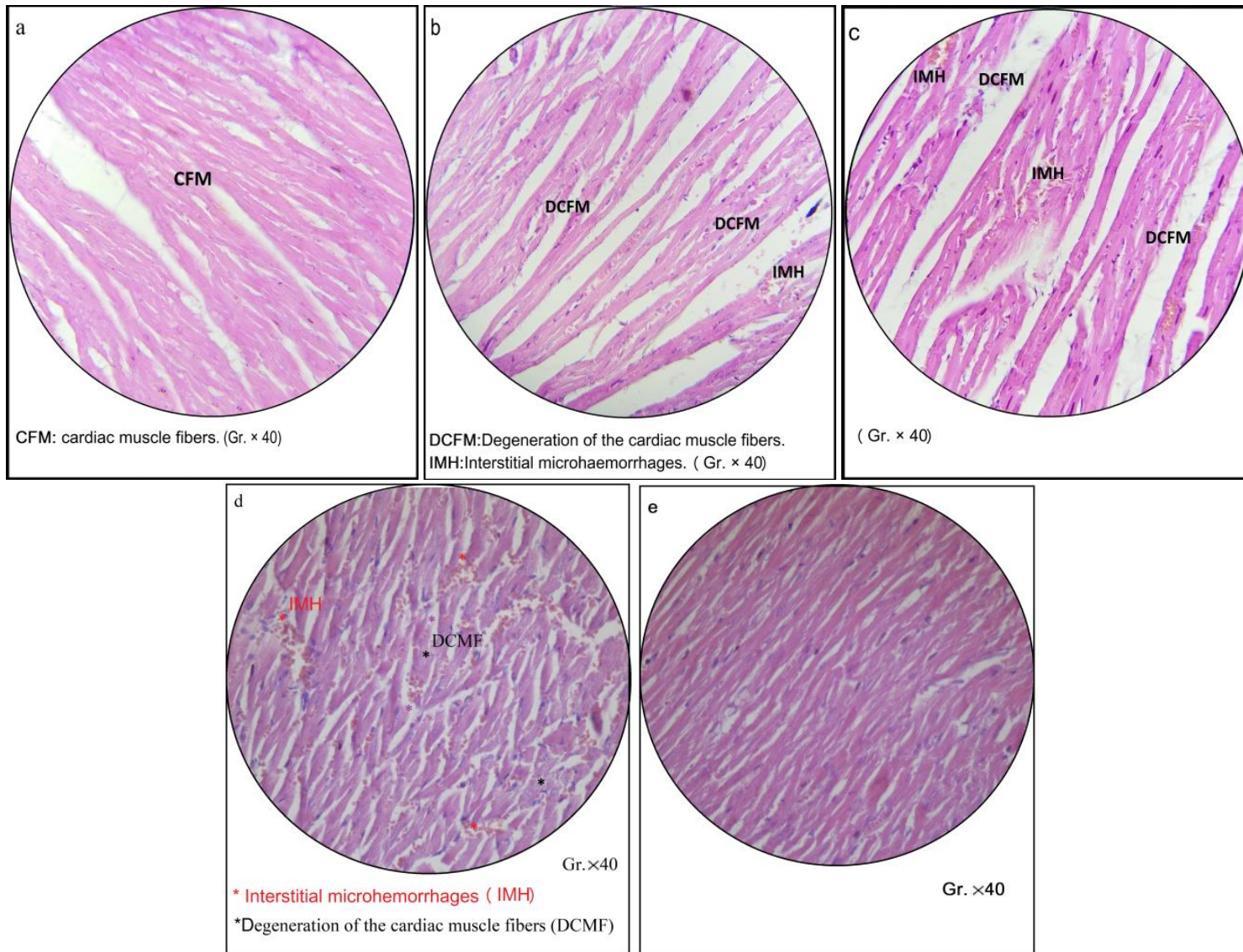


Figure 5.14: Effets de la phycocyanine sur la cardiotoxicité causée par la DLM

IV.3. Effet du jeûne sur les animaux traités par la déltamethrine

IV.3.1. Effet du jeûne sur les marqueurs biochimiques

Les données relatives aux tests biochimiques des rats expérimentaux sont présentées dans tableaux 5.3 ci-dessous :

Tableau 5.3. Effet de la DLM et / ou du jeûne sur quelques marqueurs sériques chez le rat

Paramètres	Groupes			
	Contrôle n=6	JN n=6	DLM n=6	DLM/JN n=6
ASAT (UI/L)	148,06±28,97	145,06±41,90	195,35 ±54,74***	169,35±53,15
ALAT (UI/L)	46,55±7,52	50,64±10,30***	43,22±14,04	63,50±9,94***
PT (g/L)	76,17±8,47	79,29±5,07	73,94±8,07***	70,44±7,27

Les valeurs sont représentées en moyenne± écart type. ***P ≤0,01

L'administration de la DLM à concentration de 1,28 mg/kg de poids vif/jour a causé une augmentation hautement significative ($P \leq 0,01$) de la concentration sérique en ASAT (groupe DLM) de l'ordre de 195,35 ±54,74 (UI/L) en comparaison avec le groupe témoin qui est de l'ordre de 148,06±28,97 (UI/L). Les groupes traités par la DLM et ayant été soumis au jeûne (groupe DLM/JN) ont vu leur taux d'ASAT sérique baisser de l'ordre de 169,35±53,15 mais ce déclin reste non significatif en comparaison avec le groupe DLM (fig.5.15).

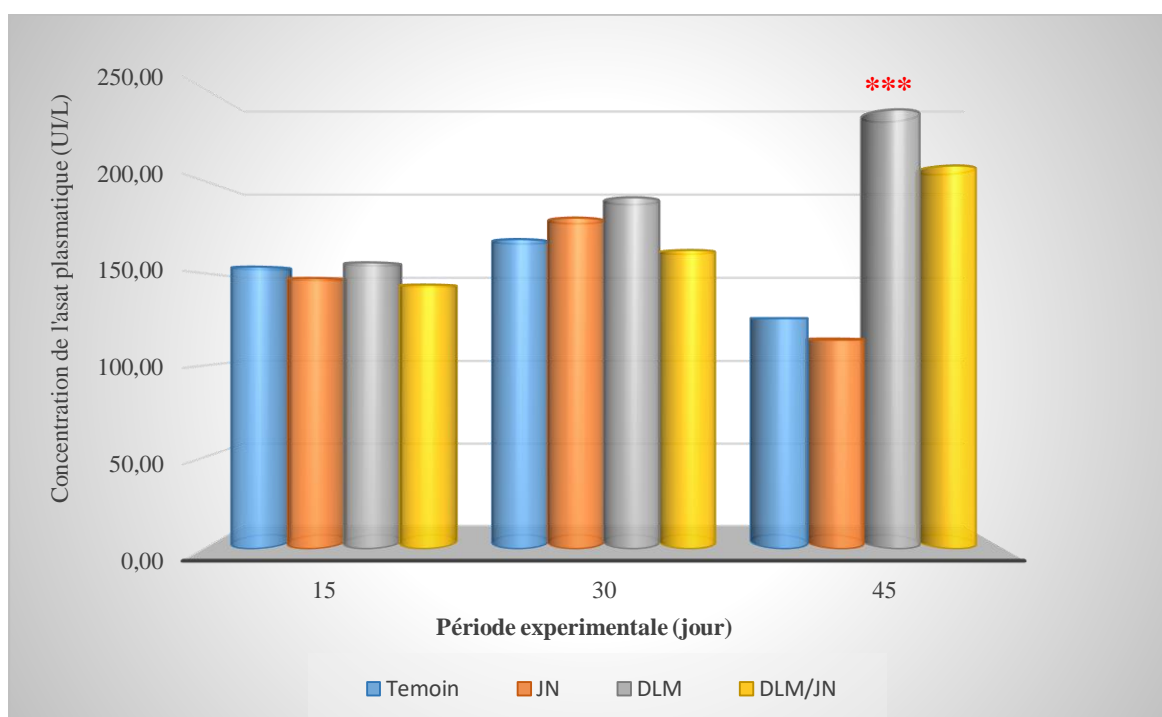


Figure 5.15 : Comparaison des concentrations de l'ASAT sérique (UI/L) chez les groupes de rats femelles traitées avec le régime JN, DLM et DLM/JN et le groupe témoin.

Le jeûne a causé une augmentation hautement significative ($P \leq 0,01$) de la concentration sérique en ALAT (groupe JN) de l'ordre de $59,6 \pm 6,46$ (UI/L) en comparaison avec le groupe témoin qui ne dépasse pas $41,83 \pm 3,28$ (UI/L) et cela après quatre semaines de traitement. Le groupe traité à la DLM et soumis au jeûne (groupe DLM/JN) a vu son taux d'ALAT sérique augmenter de manière très significative de l'ordre de $63,50 \pm 9,94$ en comparaison avec le groupe DLM qui est de $43,22 \pm 14,04$ (fig.5.16).

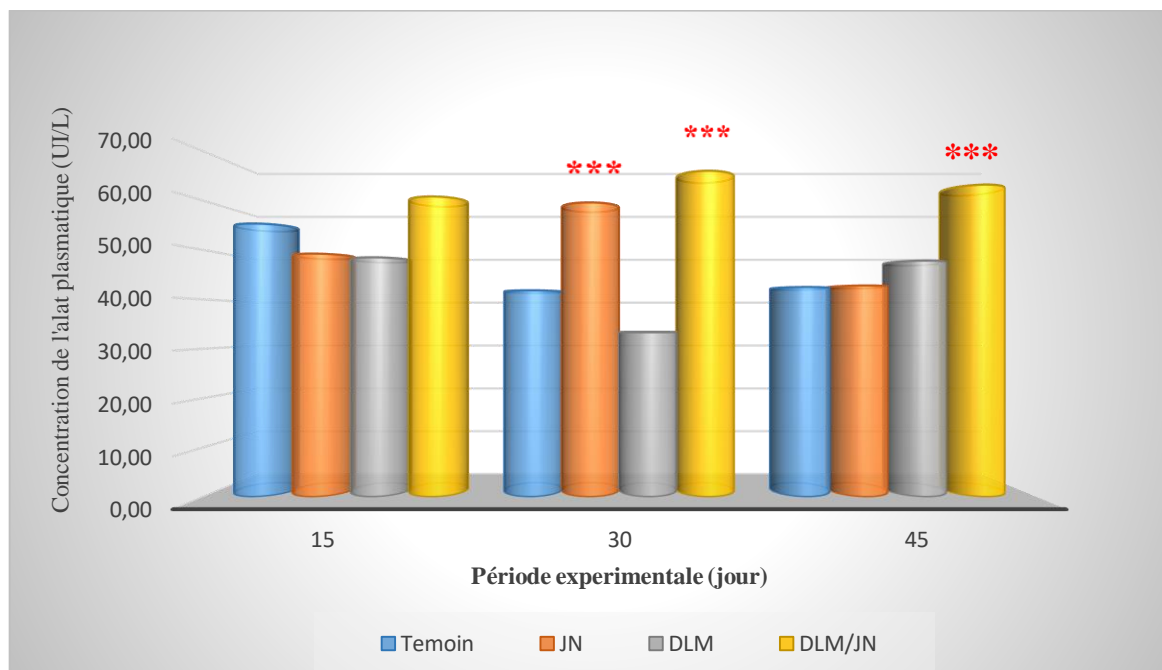


Figure 5.16 : Comparaison des concentrations de l'ALAT sérique (UI/L) chez les groupes de rats femelles traitées avec le régime JN, DLM et DLM/JN et le groupe témoin.

La soumission des rats au jeûne (groupe JN) a augmenté de manière significative la concentration des protéines sérique totales $79,29 \pm 5,07$ (g/L) en comparaison avec le groupe témoin $76,17 \pm 8,47$ (g/L) et cela après deux semaines de traitement. La DLM a eu un effet hautement significatif ($P \leq 0,01$) sur l'abaissement de la concentration des protéines sérique totales (groupe DLM) de l'ordre de $73,94 \pm 8,07$ (g/L) en comparaison avec le groupe témoin $76,17 \pm 8,47$ (g/L) (fig. 5.17).

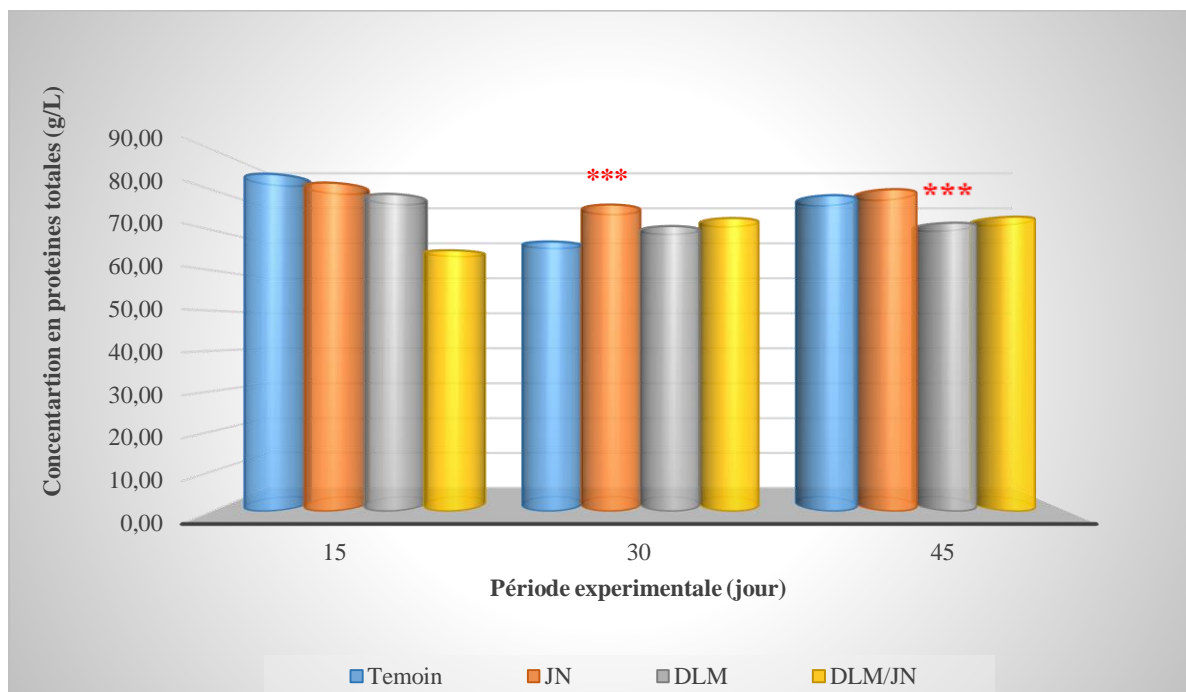


Figure 5.17 : Comparaison des concentrations des protéines sériques totales (g/L) chez les groupes de rats femelles traitées avec le régime JN, DLM et DLM/JN et le groupe témoin.

IV.3.2. Effet du jeûne sur l'histologie de quelques organes vitaux

L'intoxication sub-aiguë causée par la deltaméthrine ainsi que les effets d'amélioration du jeûne ont été évalués à partir des coupes histologiques au niveau du foie, des reins et du cœur. Les effets du jeûne au niveau tissulaire n'ont pas été observés d'une manière remarquable, en effet nous n'avons pas relevé des changements significatifs car les tissus prélevés présentent pratiquement les mêmes lésions que celles observées chez le groupe DLM.

Dans ce qui suit nous allons exposer les effets observés sur l'histologie du groupe JN.

IV.3.2.1. Effets hépato-protecteurs du jeûne chez le rat traité par la DLM

Le foie des rattes intoxiquées par la DLM présente une dégénérescence hépatocytaire péri vasculaire (fig.5.18 (d)) à localisation principalement centrolobulaire, ainsi qu'une inflammation périportale de type lymphoplasmocytaire (fig.5.18 (b)). Par ailleurs, nous observons la présence de foyers inflammatoires intra parenchymateux mixtes composés de

lymphocytes, d'histiocytes et de quelques polynucléaires neutrophiles, ainsi que la présence de cellules inflammatoires au niveau des sinusoides (lymphocytes et polynucléaires neutrophiles essentiellement) (fig.5.18 (c)). Le groupe soumis au jeûne a eu une diminution de l'intensité et de la distribution de la dégénérescence hépatocytaire ainsi que l'intensité et la distribution de l'inflammation (fig.5.18 (f)).

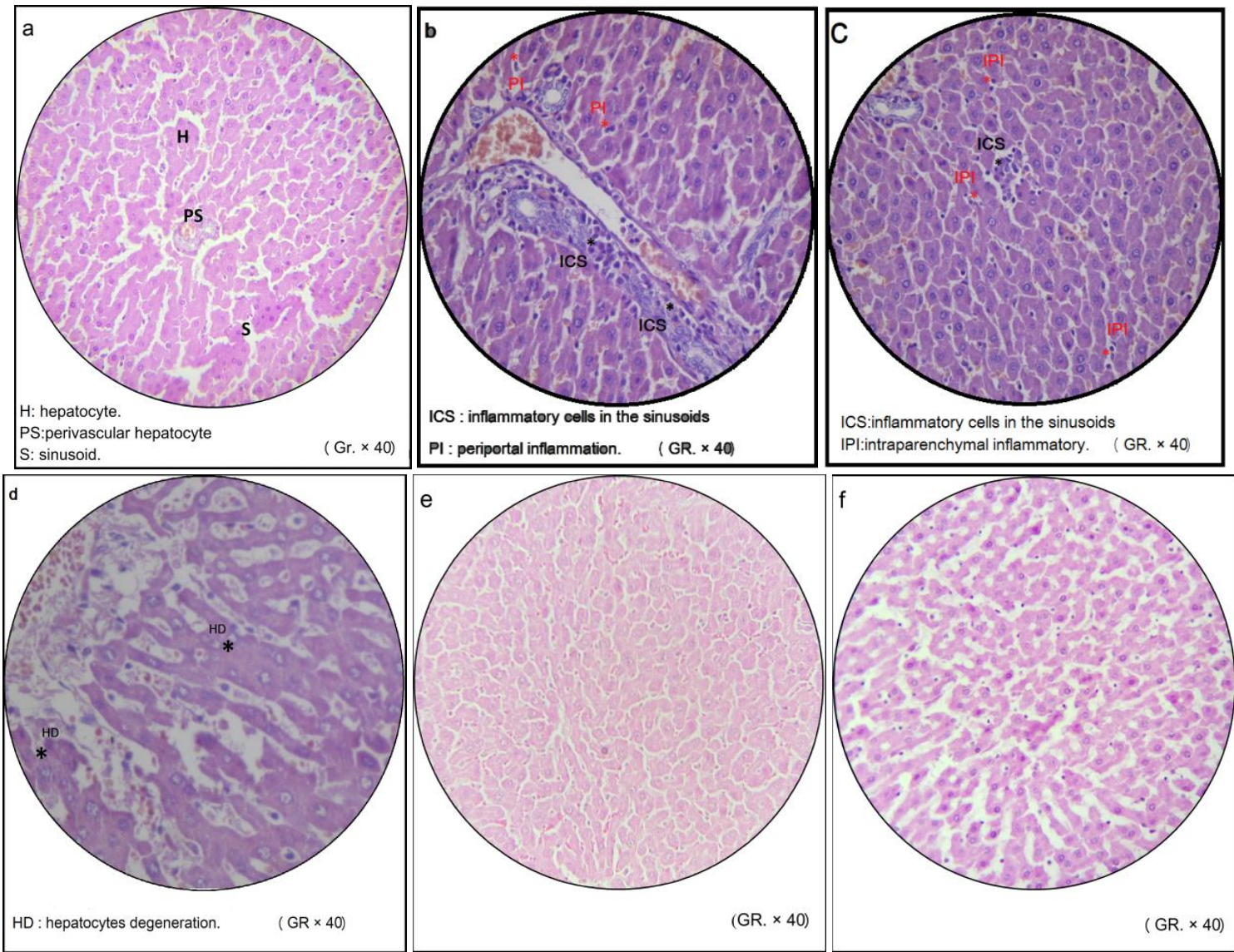


Figure 5.18 : Effets du jeûne sur l'hépatotoxicité causée par la DLM

IV.3.2.2. Effets néphroprotecteurs du jeûne chez le rat traité par la DLM

Le rein du témoin DLM présente une dégénérescence des cellules épithéliales tubulaires (tubes contournés proximaux et distaux), une hyperplasie des cellules mésangiales (fig.5.19 (b)), ainsi qu'une rétraction glomérulaire multifocale (fig.5.19 (c)).

Marqué par une diminution de la fréquence et de l'intensité de la rétraction glomérulaire, le tissu rénal du groupe DLM/JN (fig.5.19 (e)) présente ainsi un aspect proche de ceux du témoin négatif (fig.5.19 (a)). Il met en exergue aussi la diminution de l'intensité de l'hyperplasie des cellules mésangiales, et une légère diminution de l'intensité de la dégénérescence épithéliale tubulaire comparativement au témoin DLM (fig. 5.19).

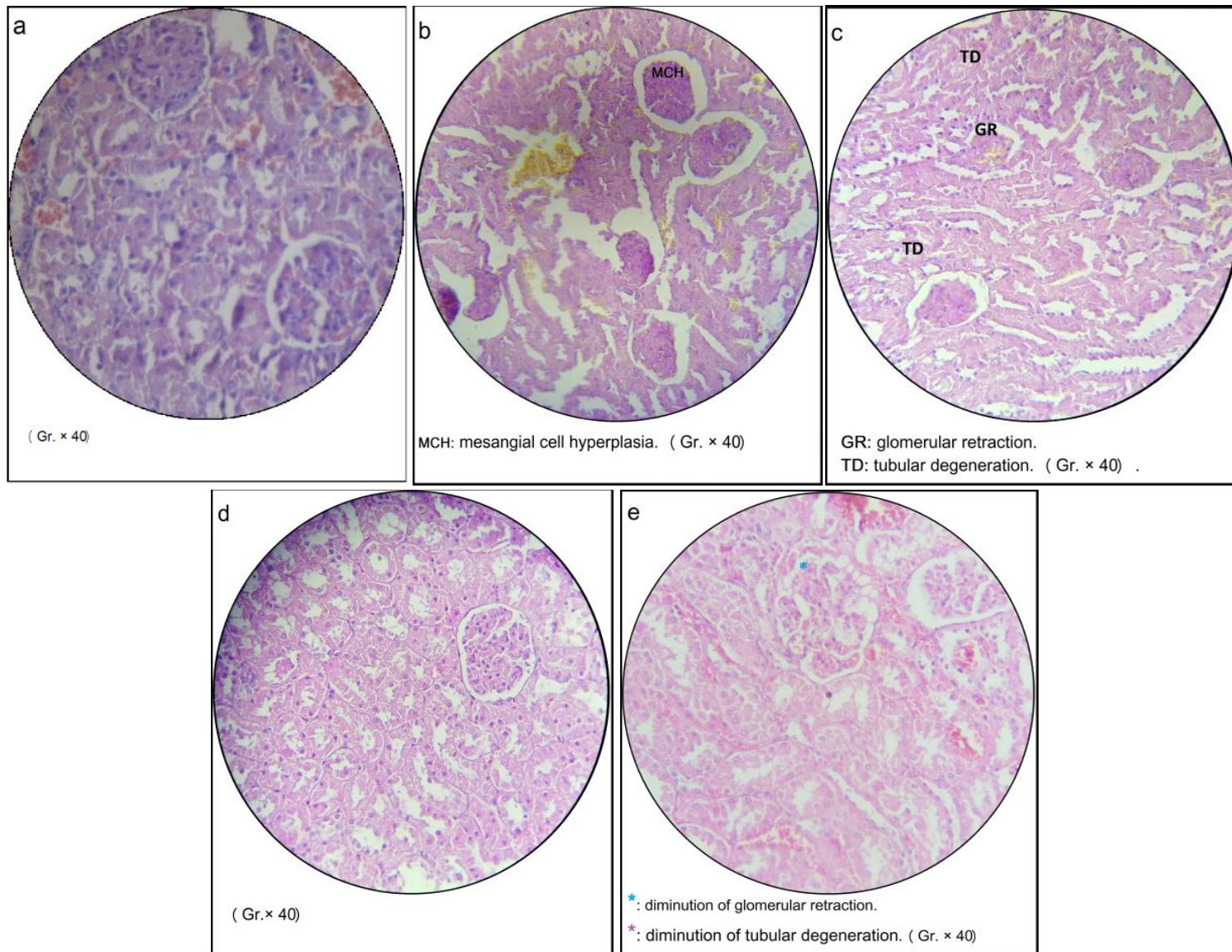


Figure 5.19 : Effets du jeûne sur la néphrotoxicité causée par la DLM

IV.3.2.3. Effets cardio-protecteurs du jeûne chez le rat traité par la DLM

Le tissu cardiaque du témoin DLM est caractérisé par la présence de microhémorragies interstitielles, ainsi qu'une dégénérescence des fibres musculaires cardiaques (fig.5.20 (b, c)). Comparativement au témoin DLM (fig.5.20 (b, c)), le tissu cardiaque du groupe DLM/FT (fig.5.2(d)) montre la persistance des microhémorragies interstitielles avec cependant, une diminution dans l'intensité et la distribution, ainsi que de l'intensité et la distribution de la dégénérescence des fibres musculaires cardiaques (fig. 5.20).

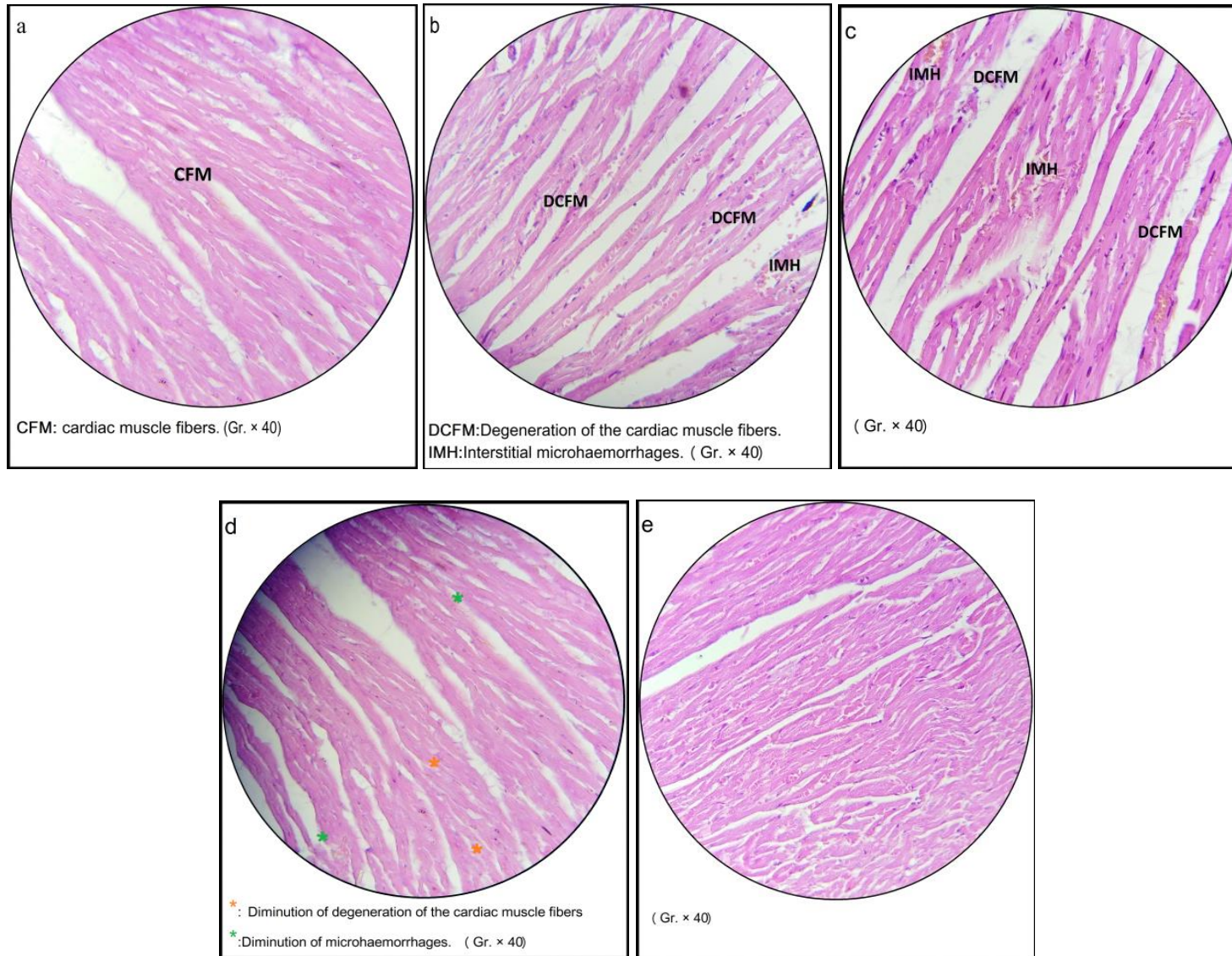


Figure 5.20: Effets du jeûne sur la cardiotoxicité causée par la DLM

Discussion

Les espèces d'oxygène réactif (ROS) sont continuellement générées à l'intérieur du corps animal en raison de son exposition à de nombreux médicaments et xénobiotiques de notre environnement et / ou par de nombreux processus métaboliques endogènes impliquant l'oxydoréduction enzymatique et à travers le mécanisme de transport bioénergétique d'électrons (**Sun.**, 1990). Dans des conditions normales, il existe un équilibre entre les ROS générés et antioxydants endogènes qui neutralisent ces derniers (**Sun.**, 1990). Les effets nocifs causés par les ROS résultent de leur surproduction entraînant un stress oxydatif conduisant à une inflammation chronique qui, à son tour, induit une altération des fonctions cellulaires, et donc contribue aux différents états pathologiques (**Sun.**, 1990 ; **Fedekar Madkour & Abdel-daim.**, 2013 ; **Dupuis *et al.***, 2018).

En raison de sa grande efficacité sur un grand nombre de ravageurs, la DLM est devenue un insecticide de choix dans de nombreux pays (**Abdou & Abdel-Daim.**, 2014) Son utilisation mondiale a augmenté, particulièrement dans les régions affectées par les maladies à transmission vectorielle (**Kumar *et al.***, 2017). Au cours du métabolisme des pyréthrinoïdes, les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont générées, entraînant un stress oxydatif chez les animaux intoxiqués (**Desai *et al.***, 2016). Connu pour ses manifestations toxiques étendues, la DLM induit des dommages oxydatifs en produisant des espèces réactives de l'oxygène, et en diminuant les activités biologiques des antioxydants enzymatiques rénaux, hépatiques et cérébraux, tels que la SOD, la CAT et la GPx (**Abdou & Abdel-Daim.**, 2014 ; **Ncir *et al.***, 2017). Elle peut causer des allergies, une hépatotoxicité, une néphrotoxicité, une génotoxicité, une mutagénicité par immunosuppression et infertilité (**Abdou & Abdel-Daim.**, 2014).

Bien que plusieurs rapports sur la toxicité de la DLM ont été publiés, peu d'études ont été réalisées sur l'utilisation de produits naturels pour la prévention d'une telle toxicité.

Dans la présente étude, les lésions hépatorénales et cardiaques causées par la DLM peuvent être attribuées au stress oxydatif résultant de la surproduction de radicaux libres. La détermination plasmatique de l'alanine aminotransférase (ALAT) et l'aspartate aminotransférase (ASAT) chez des rattes traitées à la DLM a montré une augmentation significative ($P \leq 0,01$) de l'ASAT après 30 jours et n'a montré aucune augmentation significative de l'ALAT durant cette période.

Ces résultats indiquent des dommages entraînant un dysfonctionnement du cœur, du foie et des reins chez les rattes traitées à la DLM. Ces résultats sont compatibles avec d'autres travaux qui suggèrent que la DLM induit le stress oxydatif (**Chargui *et al.*, 2012 ; Abdelkhalek *et al.*, 2014 ; Abdel-Daim *et al.*, 2014 ; Oliveira *et al.*, 2018**).

Dans la présente étude, la supplémentation en PC à une concentration de 0,36% à réduit le taux d'ASAT sérique et cela pourrait être dû à son importante activité antioxydante et à sa capacité à piéger les radicaux libres (**Kamble *et al.*, 2013**). Minic *et al* ont démontré qu'une digestion par la pepsine libre des chromopeptides biologiquement actifs de la C-phycoyanine dont l'activité est principalement liée à la puissance antioxydante fournie par le chromophore et montrent un effet cytotoxique sur l'adénocarcinome cervical humain et le côlon épithélial lignées cellulaires cancéreuses. De plus, les chromopeptides protègent les érythrocytes humains de l'hémolyse induite par les radicaux libres d'une manière dépendante de la capacité antioxydante (**Minic *et al.*, 2016**). Comme indiqué plus haut Yabuta *et al* ont démontré que la digestion gastro-intestinale chez les mammifères de l'apoprotéine de phycoérythrine libre des composés de phycoérythrobiline (chromophore de la protéine pigmentaire) à capacité d'élimination des radicaux peroxy 2,7 fois supérieure à celle des extraits d'algues, et indiquent que les diverses activités thérapeutiques de la phycoérythrine semblent être associées au composé de phycoérythrobiline libéré lors de la digestion gastro-intestinale des mammifères (**Yabuta *et al.*, 2010**).

Comme le foie est l'organe principal de diverses voies métaboliques et le rein est l'organe principal d'excrétion des médicaments et des xénobiotiques, les effets toxiques des produits chimiques apparaissent principalement au niveau des tissus hépatiques et rénaux (**Azab et al.**, 2013). L'étude histologique confirme les propriétés antioxydantes de l'extrait de phycocyanine. L'exposition à la deltaméthrine a provoqué la dégénérescence des hépatocytes, l'apparition de l'inflammation périportale, l'apparition de foyers inflammatoires intra parenchymateux, la dégénérescence épithéliale tubulaire, l'hyperplasie des cellules mésangiales et la rétraction glomérulaire multifocale rénale chez le groupe exposé à la DLM témoignent, d'une atteinte hépatorénale. Les résultats histopathologiques ont confirmé la protection remarquable de la PC contre les hépatites et la néphrotoxicité induite par la DLM.

Il a été rapporté que les pyréthriinoïdes peuvent causer de graves manifestations cardiovasculaires toxiques (**De la Cerda et al.**, 2002). Dans notre étude, nous avons observé la présence de microhémorragies interstitielles, ainsi qu'une dégénérescence des fibres musculaires cardiaques témoignant de lésions cardiaques aiguës chez le groupe exposé à la DLM. Les résultats histopathologiques ont également confirmé la protection remarquable de la PC contre la cardiotoxicité induite par la DLM.

Les lésions hépatorénales et cardiaques décrites dans la présente étude causée par la DLM peuvent être attribuées à l'accroissement du statut du stress oxydatif (**Abdelkhalek et al.**, 2014). Les effets hépatoprotecteurs, néphroprotecteurs et cardioprotecteurs de la phycocyanine pourraient être soit directes en diminuant le niveau des ROS intracellulaires en piégeant les radicaux libres, y compris les peroxydes, et les radicaux hydroxyles (**Abdelkhalek et al.**, 2014), ainsi que par sa capacité à inhiber sélectivement la COX-2 (**Reddy et al.**, 2000), soit indirectes de par ses propriétés chélatantes, en protégeant l'activité des enzymes cellulaires antioxydantes totales à savoir la glutathion peroxydase (GPx), GPx-Se et la glutathion réductase (GR) contre le stress oxydatif induit par le fer (**Bermejo-Bescós et al.**, 2008), aussi par sa capacité à augmenter le taux de la Glutathion réduit (GSH), par l'amélioration de la fonction

mitochondriale ainsi que la diminution de l'activité de la cathepsine B intracellulaire (**Abdel-Daim et al.**, 2014), par conséquent, la PC pourrait être utilisée comme agent préventif et thérapeutique contre les maladies oxydatives du foie du rein et du cœur. **Wu et al.**, 2016 ont clairement démontré que la phycocyanine de qualité alimentaire possède des propriétés antioxydantes importantes, suggérant que cette dernière peut améliorer la santé humaine lors sa consommation.

Actuellement plusieurs études démontrent que le jeûne entraîne des actions pléiotropes destinées à promouvoir la santé et la longévité des organismes. Mais les mécanismes physiologiques par lesquels le jeûne protège contre les maladies métaboliques restent en grande partie inconnus (**Fuhrmeister et al.**, 2016).

Les effets hépatoprotecteurs, néphroprotecteurs et cardioprotecteurs du jeûne pourraient être due à sa capacité à diminuer la génération des espèces d'oxygène réactives mitochondriale (Mit ROS) et le stress oxydatif dans les tissus postmitotiques du rat d'une part (**Pamplona & Barja.**, 2006), et en piégeant les radicaux libres par l'augmentation de l'activité des superoxydedismutase (SOD) de la mitochondrie d'autre part (**Descamps et al.**, 2005). En effet **Martin et al** démontrent dans leur étude que le jeûne intermittent stimule l'expression des gènes SIRT1, SIRT3, SOD2 et TFAM qui jouent un rôle dans le ralentissement du vieillissement et la réduction du stress oxydatif (**Wegman et al.**, 2015).

Dans une étude menée sur les lésions d'ischémie-reperfusion (IR) rénale chez le rat par **Rojas-Morales et al**, il a été démontré que le jeûne réduit le stress oxydatif dans les lésions rénales IR en augmentant l'activité des enzymes antioxydantes glutathion S-transferase (GST), superoxydedismutase (SOD) glutathionperoxidase et (GPx) dans le rein blessé, et maintient la structure et la fonction mitochondriale dans le traitement des lésions rénales par IR (**Rojas-Morales et al.**, 2019).

Il a aussi été démontré que le jeûne avait des effets cardioprotecteurs chez des rats par la protection des myocytes cardiaques contre les lésions ischémiques (**Mattson & Wan.**, 2005),

et chez des souris traitées à la doxorubicine (DXR) par l'induction de l'expression d'hormones peptidiques cardioprotectrices à savoir le peptide natriurétique auriculaire (ANP) et le Peptide natriurétique de type B (BNP) (**Di Biase *et al.*, 2017**).

En résumé, ces résultats suggèrent que le jeûne pourrait être envisagé comme traitement préventif et thérapeutique contre les maladies oxydatives du foie du rein et du cœur.

CONCLUSION
&
PERSPECTIVES

Conclusion :

Notre étude avait pour objectif de mettre en évidence les effets protecteurs que pourrait avoir la phycocyanine extraite de la spiruline d'une part et les effets soupçonnés du jeûne sur la stimulation des défenses du rat traité par la DLM d'autre part.

Il est maintenant bien établi que la phycocyanine est un antioxydant qui pourrait avoir un rôle protecteur contre le stress oxydatif causé éventuellement par les xénobiotiques comme les insecticides. Son pouvoir antioxydant est d'autant plus important que son degré de pureté est élevé.

Nous avons voulu, dans un premier temps estimer le pouvoir antioxydant de notre molécule à travers plusieurs tests antioxydants afin de cerner son mode d'action sur les agents oxydants, pour ce faire nous avons procédé à son extraction et purification à partir de la souche de spiruline (*Spirulina*) dénommée « BEHATAM » originaire du massif cristallin du Hoggar « Tamanrasset », elle nous a été remise sous forme de bâtonnets séchés issus de la Eurl HIRI Abdelkader. Les résultats montrent que :

La phycocyanine de qualité alimentaire (pureté $\approx 0,15 \leq 0,7$) possède une capacité modérée à réduire le radical DPPH avec un pourcentage d'inhibition de 38,94% par rapport à nos standards avec lesquels nous avons obtenu 85,29 et 88,73% respectivement pour le BHT et l'acide tannique ;

A l'épreuve du test de blanchiment du β -Carotène nos extraits de phycocyanine ont montré une capacité antiradicalaire avec 63,14% d'inhibition pour l'extrait 2 ce qui reste modéré en comparaison à nos standards avec lesquels nous avons obtenu 100% d'inhibition ;

Notre extrait s'est révélé capable de chélater les ions métalliques mais demeure moins actif que l'EDTA avec un pourcentage de chélation de 45,12 et 93,83 % respectivement pour la concentration de 800 $\mu\text{g/mL}$.

La différence de pureté de nos extraits a révélé la capacité antioxydante de ces derniers à caractère dose-dépendante et pureté-dépendante.

Après la phase d'évaluation *in vitro* de notre molécule, nous l'avons mise à l'épreuve à travers une expérimentation *in vivo* sur des rats femelles de souche Wistar afin d'apprécier son impact sur les effets toxiques causés par la DLM, pour ce faire nous avons incorporé notre extrait de phycocyanine dans l'aliment granulé puis nous avons étudié en premier lieu son impact sur le profil biochimique, en second lieu nous avons réalisé des coupes histologiques sur nos animaux afin d'observer d'éventuels changements aux niveaux tissulaires ;

Les analyses biochimiques présentent une augmentation très hautement significative ($P \leq 0,01$) de la concentration sérique en ASAT (groupe DLM) de l'ordre de $195,35 \pm 54,74$ (UI/L) en comparaison avec le groupe témoin qui a enregistré une concentration de $148,05 \pm 28,97$ (UI/L), ainsi qu'une baisse de manière très hautement significative ($P \leq 0,01$) des protéines totales sériques jusqu'à atteindre $73,94 \pm 8,07$ (g/L) en comparaison avec le groupe témoin (contrôle) qui a enregistré une concentration de $76,17 \pm 8,48$ (g/L);

Une diminution significative de la concentration de l'ASAT sérique à raison de $161,47 \pm 33,62$ (UI/L) causée par l'addition de la PC au régime alimentaire des rats traités à la DLM (groupe DLM/PC) a été observée ;

L'addition de la PC au régime alimentaire des rats traités à la DLM (groupe DLM/PC) a eu un faible effet (non significative) sur l'augmentation de la concentration en protéines totales à raison de $75,58 \pm 5,85$ (g/L) en comparaison avec le groupe DLM ;

Il faut noter l'existence d'une relation directe entre la supplémentation en phycocyanine dans le régime des rats et la baisse de la concentration en ASAT sérique.

A la fin de la période expérimentale, nous avons enregistré un retard de croissance significatif relevé chez les rats ayant ingéré la DLM (à raison de $1,28$ mg/kg de poids vif/jour) qui est de l'ordre de $5,34$ % (groupe DLM) ;

La phycocyanine n'a eu aucun effet sur le gain de poids des rattes traitées par la DLM.

Au niveau tissulaire plusieurs lésions causées par l'administration de la DLM ont été observées et qui se résume en ce qui suit :

Au niveau du foie nous avons noté la présence de dégénérescence hépatocytaire péri vasculaire à localisation principalement centrolobulaire, une inflammation périportale de type lymphoplasmocytaire, la présence de foyers inflammatoires intra parenchymateux mixtes, ainsi que la présence de cellules inflammatoires au niveau des sinusoides chez le groupe traité par la DLM ;

Le rein du témoin DLM présente une dégénérescence des cellules épithéliales tubulaires (tubes contournés proximaux et distaux), une hyperplasie des cellules mésangiales, ainsi qu'une rétraction glomérulaire multifocale.

Le tissu cardiaque du témoin DLM est marqué par la présence de microhémorragies interstitielles, ainsi qu'une dégénérescence des fibres musculaires cardiaques.

Une relation directe existe entre la supplémentation en phycocyanine dans le régime des rats et la diminution des dommages cités ci-dessus.

Dans la partie qui traite l'étude faite sur la phycocyanine il a été établi une relation certaine entre l'incorporation de cette dernière et la diminution des effets toxiques de la DLM, les effets antioxydants de la PC se sont avérés même à très faible pureté.

Parallèlement à l'étude des effets de la phycocyanine sur la physiologie des rats traités par la DLM nous avons testé les effets du jeûne sur nos animaux traités par la DLM, il ressort ce qui suit :

Au début d'expérimentation le jeûne a eu un effet hautement significatif sur la chute de poids chez le groupe traité à la DLM (groupe DLM/JN) avec un retard de croissance estimé à 20,08 % par rapport au groupe contrôle et cela après 15 jours de traitement, néanmoins un regain de poids remarquable de ce groupe a été observé se rapprochant de celui du groupe témoin en fin d'expérimentation avec un poids de $183,25 \pm 25,28$ et $186,83 \pm 9,53$ g respectivement.

L'étude biochimique a révélé une baisse du taux d'ASAT sérique de l'ordre de $169,35 \pm 53,15$ UI/L sous l'effet du jeûne mais qui reste non significative en comparaison avec le groupe DLM qui a enregistré $195,35 \pm 54,74$ (UI/L).

Une augmentation significative de la concentration des protéines sériques totales $79,29 \pm 5,07$ (g/L) a été soulevée sous l'effet du jeûne en comparaison avec le groupe témoin $76,17 \pm 8,47$ (g/L).

Au niveau tissulaire l'effet du jeûne n'a pas eu d'effet prononcé contre les effets toxiques de la DLM.

Dans cette étude le jeûne a eu très peu d'effets significatifs contre la toxicité causée par la déltamethrine.

Perspectives

S'orienter vers des recherches à court, moyen et long terme sur l'étude de différentes puretés de la phycocyanine afin de déterminer la dose et la pureté les plus appropriées qui préservent l'organisme des éventuels effets toxiques sans provoquer un effet pro-oxydant.

Poursuivre les recherches sur les techniques de culture de la spiruline, afin d'optimiser sa production et à très faible coût.

Développer des méthodes d'extraction et de purification de la phycocyanine le moins couteux possible afin de rendre possible son exploitation à grand échelle.

Etudier la possibilité de valider la phycocyanine autant qu'additif alimentaire (agent antioxydant, colorant alimentaire).

Etudier la possibilité d'intégrer la phycocyanine dans des compléments alimentaires.

Poursuivre les études cliniques à grande échelle sur le jeûne afin de déterminer les mécanismes physiologiques par lesquels ce dernier protège contre les maladies métaboliques.

Faire des recherches approfondies sur tous les types de jeûne afin de définir leurs impacts sur la physiologie et de l'inscrire dans de nouvelles approches thérapeutiques pour la prévention et le traitement de certains types de pathologie.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques:

Abdel-Daim M, El-Bialy B. E, Abdel Rahman H. G, Radi A. M, Hefny H. A, Hassan A. M. Antagonistic effects of *Spirulina platensis* against sub-acute deltamethrin toxicity in mice: Biochemical and histopathological studies. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2016; 77: 79–85.

Abdel-Daim M. M, Abuzead S. M. M, Halawa S. M. Protective Role of *Spirulina platensis* against Acute Deltamethrin-Induced Toxicity in Rats. *PLOS ONE*. 2013; 8:1-7.

Abdel-Daim M. M, Abd Eldaim M. A, Mahmoud M. M. *Trigonella foenum-graecum* protection against deltamethrin-induced toxic effects on haematological, biochemical, and oxidative stress parameters in rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2014; 92(8): 679–685.

Abdel-Daim M. M, El-Ghoneimy A. Synergistic protective effects of ceftriaxone and ascorbic acid against subacute deltamethrin-induced nephrotoxicity in rats. *Ren Fail*. 2015; 37(2): 297–304.

Abdelkhalek N. K. M, Ghazy E. W, Abdel-Daim M. M. Pharmacodynamic interaction of *Spirulina platensis* and deltamethrin in freshwater fish Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: impact on lipid peroxidation and oxidative stress. *Environ Sci Pollut Res*. 2014; 22(4): 3023-3031.

Abdou R.H, Abdel-Daim M.M. Alpha-lipoic acid improves acute deltamethrin-induced toxicity in rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol*. 2014; 92(9):773-779.

Aissaoui O, Amiali M, Bouzid N, Belkacemi K, Bitam A. Effect of *Spirulina platensis* ingestion on the abnormal biochemical and oxidative stress parameters in the pancreas and liver of alloxan-induced diabetic rats. *Pharmaceutical Biology*. 2017; 55:1, 1304-1312.

Alam M. N, Bristi N. J, Rafiquzzaman M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2013; 21(2), 143–152.

Alberti K. G. M. M, Batstone G. F, Foster K. J, Johnston D. G. Relative Role of Various Hormones in Mediating the Metabolic Response to Injury. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 1980; 4(2), 141–146.

Ameen A, Raza S. Green Revolution: A Review. *International Journal of Advances in Scientific Research*. 2017; 3(12): 129-137.

Andrade Jr M. C. Metabolism during Fasting and Starvation: Understanding the Basics to Glimpse New Boundaries. *J Nutr Diet*. 2017; 1(1), 1-3.

Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir S. E. Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing

Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004; 52(26), 7970–7981.

Asari U, Udavat H, Shah K, Kalola A, Vaja M, Patel P. A study of risk factors, clinical profile and outcome of new and established type 1 diabetes mellitus presented with diabetic ketoacidosis in children less than 14 years in a tertiary care hospital. *International Journal of Scientific Research*. 2019, 8 (12), 8-10.

Ashitha A, Mathew J. Characteristics and Types of Slow/Controlled Release of Pesticides. *Controlled Release of Pesticides for Sustainable Agriculture*. 2019; 141–153.

Azab S. S, Abdel-Daim M, Eldahshan O.A. Phytochemical, cytotoxic, hepatoprotective and antioxidant properties of *Delonix regia* leaves extract. *Med Chem Res*. 2013; 22: 4269–4277 in Abdel-Daim M. M, Abuzead S. M. M, Halawa S. M. Protective Role of *Spirulina platensis* against Acute Deltamethrin-Induced Toxicity in Rats. *PLOS ONE*. 2013; 8:1-7.

Aznar-Alemany Ò, Eljarrat E. Introduction to Pyrethroid Insecticides: Chemical Structures, Properties, Mode of Action and Use. *The Handbook of Environmental Chemistry*. 2020. Bao X, Huang Y, Chen F. C-Phycocyanin Alleviates Bladder Inflammation and Dysfunction in Cyclophosphamide-Induced Cystitis in a Mouse Model by Inhibiting COX-2 and EP4. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2019; 2019, 1–6.

Basdevant A, Tchobroutsky G. Stocks énergétiques- constitution mobilisation. In : *Traité de médecine*. 2nd Edition. Flammarion Médecine-Sciences: Paris. 1987 in Andrade Jr M. C. Metabolism during Fasting and Starvation: Understanding the Basics to Glimpse New Boundaries. *J Nutr Diet*. 2017; 1(1), 1-3.

Bauersfeld S.P, Kessler C.S, Wischnewsky M, Jaensch A, Steckhan N, Stange R, a Kunz B, Brückner B, Sehoul J, Michalsen A. The effects of short-term fasting on quality of life and tolerance to chemotherapy in patients with breast and ovarian cancer: a randomized cross-over pilot study. *BMC Cancer*. 2018; 18 (1).

Bennett a, Bogorad l. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *The Journal of Cell Biology*. 1973; 58, 419 -435.

Bensouici C, Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes du genre *Sedum* (Crassulaceae). Université Freres Mentouri Constantine, faculté des sciences exactes, département de chimie, thèse de doctorat. 2015 ; 221p.

Bermejo P, Piñero E, Villar Á. M. Iron-chelating ability and antioxidant properties of phycocyanin isolated from a protean extract of *Spirulina platensis*. *Food Chemistry*. 2008, 110(2), 436–445.

Bermejo-Bescós P, Piñero-Estrada E, Villar del Fresno Á M. Neuroprotection by *Spirulina platensis* protean extract and phycocyanin against iron-induced toxicity in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Toxicology in Vitro*. 2008; 22(6): 1496–1502.

Bhardwaj J. K, Mittal M, Saraf P, Kumari P. *Pesticides induced oxidative stress and female infertility: a review*. *Toxin Reviews*. 2018; 1–13.

Bharti S. K, Barman S. C, Kumar N. Organochlorine Pesticides (OCPs) in Atmospheric Particulate Matter: Sources and Effects. *Environmental Concerns and Sustainable Development*. 2019; 97–111.

Björntorp P, Yang M. U. Refeeding after fasting in the rat: effects on body composition and food efficiency. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1982; 36(3), 444–449.

Blois M. S. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*. 1958; 181(4617), 1199–1200.

Bouhrel E, Shephard R. J. Optimizing physical performance during fasting and dietary restriction; Implications for Athletes and Sports Medicine. by Taylor & Francis Group LLC. 2016; 283 p.

Braud L, Kevin P. McDonnell, Fionnuala Murphy. Life cycle assessment of phycocyanin production from *arthrospira platensis* in a concept of biorefinery. UCD School of Biosystems and Food Engineering, University College Dublin, Belfield, Dublin 4, Ireland. 2019.

Brião V. B, Sbeghen A. L, Colla L. M, Castoldi V, Seguenka B, Schimidt G. de O, Costa J. A. V. Is downstream ultrafiltration enough for production of food-grade phycocyanin from *Arthrospira platensis*? *Journal of Applied Phycology*. 2020.

Cahill G. F. Fuel Metabolism in Starvation. *Annual Review of Nutrition*. 2006. 26(1), 1–22.

Campbell I. Intermediary metabolism. *Anaesth Intensive Care Med*. 2017; 18: 147-149.

Canli A. G, Sürücü B, Ulusoy H. I, Yilmaz E, Kabir A, Locatelli M. Analytical methodology for trace determination of propoxur and fenitrothion pesticide residues by decanoic acid modified magnetic nanoparticles. *Molecules* 2019; 24, 4621.

Carballo J. L, Hernández-Inda Z. L, Pérez P, García-Grávalos M. D. A comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products. *BMC Biotechnology* 2002; 2 :17.

Chambouvet P. Le jeûne thérapeutique : conséquences métaboliques, pratiques, intérêts et limites en sante. Université Claude Bernard - Lyon 1 faculté de pharmacie institut des sciences pharmaceutiques et biologiques. 2016 ;1-131.

Chandra N, Jain N. K, Sondhia S, Srivastava A. B. Deltamethrin Induced Toxicity and Ameliorative Effect of Alpha-Tocopherol in Broilers. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2013; 90:673–678.

Chargui I, Grissa I, Bensassi F, Hrira M. Y, Haouem S, Haouas Z, Bencheikh H. Oxidative Stress, Biochemical and Histopathological Alterations in the Liver and Kidney of Female Rats Exposed to Low Doses of Deltamethrin (DM): A Molecular Assessment. *Biomed Environ Sci.* 2012; 25(6): 672-683.

Cheng C. W, Villani V, Buono R, Wei M, Kumar S, Yilmaz O.H, Cohen P, Sneddon J.B, Perin L, Longo, Valter D. Fasting-mimicking diet promotes Ngn3-Driven β -cell regeneration to reverse diabetes. *CellPress.* 2017; 168, 775–788.

Chentir I, Kchaou H, Hamdi M, Jridi M, Li S, Doumandji A, Nasri M. Biofunctional gelatin-based films incorporated with food grade phycocyanin extracted from the Saharian cyanobacterium *Arthrospira* sp. *Food Hydrocolloids.* 2018a;

Chentir I, Hamdi M, Li S, Doumandji A, Markou G, Nasri M. Stability, bio-functionality and bio-activity of crude phycocyanin from a two-phase cultured Saharian *Arthrospira* sp. strain. *Algal Research.* 2018b; 35: 395–406.

Choi I.Y, Piccio L, Childress P, Bollman B, Ghosh A, Brandhorst S, Suarez J, Michalsen A, Cross A.H, Morgan T.E, Wei M, Paul F. Bock M, Longo V.D. A diet mimicking fasting promotes regeneration and reduces autoimmunity and multiple sclerosis symptoms. *Cell Reports.* 2016; 15, 1–11.

Chowdhury S. A, Orskov E. R. Implications of fasting on the energy metabolism and feed evaluation in ruminants. *Journal of Animal and Feed Sciences.* 1994; 3, 161-169.

Costa J. A. V, Freitas B. C. B, Rosa G. M, Moraes L, Morais M. G, Mitchell B. G. Operational and Economic Aspects of Spirulina-based Biorefinery. *Bioresource Technology.* 2019. 121946.

Deadman, M. L. Sources of Pesticide Residues in Food: Toxicity, Exposure, and Risk Associated with Use at the Farm Level. *Pesticide Residue in Foods.* 2017; 7–35.

De Groot S, Vreeswijk M.P.G, Welters M.J.P, Gravesteijn G, Boei J.J.W.A, Jochems A, Houtsma D, Putter H, van der Hoeven J.J.M, Nortier J.W.R, Pijl H, Kroep J.R. The effects of short-termfasting on tolerance to (neo) adjuvant chemotherapy in HER2-negative breast cancer patients: a randomized pilot study. *BMC Cancer,* 2015; 15(1).

De la Cerda E, Navarro-Polanco R. A, Sánchez-Chapula J. A. Modulation of Cardiac Action Potential and Underlying Ionic Currents by the Pyrethroid Insecticide Deltamethrin. *Archives of Medical Research.* 2002; 33: 448–454.

Desai K. R, Moid N, Patel P. B, Highland H. N. Evaluation of Deltamethrin induced reproductive toxicity in male Swiss Albino mice. *Asian Pacific Journal of Reproduction.* 2016; 5(1): 24–30.

Descamps O, Riondel J, Ducros V, Roussel A-M. Mitochondrial production of reactive oxygen species and incidence of age-associated lymphoma in OF1 mice: Effect of alternate-dayfasting. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2005; 126, 1185–1191.

Djeghim H, Etude phytochimique et biologique d'une plante médicinale Algérienne *Genista numidica* Spach. Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine. 2016, 75p.

Di Biase S, Shim H.S, Kim K.H, Vinciguerra M, Rappa F, Weil M, Brandhorst S, Cappello F, Mirzaei H, Lee C, Longo V.D. Fasting regulates EGR1 and protects from glucose- and dexamethasone-dependent sensitization to chemotherapy. *PLOS Biology*. 2017;15 (3), 21.

Dinis T. C. P, Madeira V. M. C, Almeida L. M. Action of Phenolic Derivatives (Acetaminophen, Salicylate, and 5-Aminosalicylate) as Inhibitors of Membrane Lipid Peroxidation and as Peroxyl Radical Scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1994; 315(1), 161–169.

Diyana B, Dzhemal M, Plamen S, Detelina B, Rumen M, Ivanka T. Content of phycoerythrin, phycocyanin, allophycocyanin and phycoerythrocyanin in some cyanobacterial strains: Applications. *Eng. Life Sci*. 2018; 0: 1–6.

Du X, Liu H, Yuan L, Wang Y, Ma Y, Wang R, Chen X, Losiewicz M. D, Guo H, Zhang H. The Diversity of Cyanobacterial Toxins on Structural Characterization, Distribution and Identification: A Systematic Review. *Toxins*. 2019; 11(9), 530.

Dubey N, Khan A. M, Raina R. Sub-acute Deltamethrin and Fluoride Toxicity Induced Hepatic Oxidative Stress and Biochemical Alterations in Rats. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2013; 91(3): 334-338.

Dupuis C, Berthon J.Y, Larue J, Rougé S, Filaire M, Filaire E. Effects of 6 weeks of betaine or C-phycoerythrin supplementation associated or not with wheel running on redox status. *SCISPO*. 2018; 33(1):47-55.

Ellman G L, Courtney K D, Andres V, Featherston R M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol*. 1961; 7, 88–95.

Fedekar Madkour F, Abdel-daim M. M. Hepatoprotective and Antioxidant Activity of *Dunaliella salina* in Paracetamol-induced Acute Toxicity in Rats. *Indian J Pharm Sci*. 2013; 75(6):642-648.

Fernández-Rojas B, Noel Medina-Campos O, Hernández-Pando R, Negrette-Guzmán M, Huerta-Yepez S, Pedraza-Chaverri J. C-Phycocyanin prevents cisplatin-induced nephrotoxicity through inhibition of oxidative stress. *Food Funct*. 2014a; 5(3):480-490.

Fernández-Rojas B, Hernández-Juárez J, Pedraza-Chaverri J. Nutritional properties of phycocyanin. *Journal of functional foods*. 2014b; 11: 375–392.

Ferreira A, Proença C, Serralheiro M. L. M, Araújo M. E. M. The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006; 108(1), 31–37.

Fishel F. M. “Pest Management and Pesticides: A Historical Perspective”, IFAS Extension UNIVERSITY of FLORIDA, 2009, PI219.

Fomiatti R, Latham J. R, Fraser S, Moore D, Seear K, Aitken C. A ‘messenger of sex’? Making testosterone matter in motivations for anabolic-androgenic steroid injecting. *Health Sociology Review* .2019; 28 (3), 323–338.

Fuhrmeister J, Zota A, Sijmonsma T.P, Seibert O, Cıngır S, Schmidt K, Vallon N, De Guia R.M, Niopek K, Berriel Diaz M, Maida A, Blüher M, Okun J.G, Herzig S, Rose A.J. Fasting-induced liver GADD45b restrains hepatic fatty acid uptake and improves metabolic health. *EMBO Molecular Medicine*. 2016; 8(6), 654–669.

Gabel K, Hoddy K.K, Haggerty N, Song J, Kroeger C.M, Trepanowski J.F, Panda S, Varady K.A. Effects of 8-hour time restricted feeding on body weight and metabolic disease risk factors in obese adults: A pilot study. *Nutrition and Healthy Aging*, 2018; 4 (4), 345–353.

Garrigou A, Laurent C, Berthet A, Colosio C, Jas N, Daubas-Letourneux V, Jackson Filho J. M, Jouzel J. N, Samuel O, Baldi I, Lebailly P, Galey L, Goutille F, Judon N. *Critical review of the role of PPE in the prevention of risks related to agricultural pesticide use. Safety Science*. 2020; 123, 104527.

Ghaeni M, Roomiani L. Review for Application and Medicine Effects of Spirulina, *Spirulina platensis* Microalgae. *Journal of Advanced Agricultural Technologies*. 2016; 3(2) :114-117.

Graham K. Z. Federal regulation of pesticide residues: a brief history and analysis. *J. Food L. & Pol'y*. 2019; 15(1). 98-130.

Gülçin İ. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*. 2011; 86(3), 345–391.

Gyawali K. Pesticide Uses and its Effects on Public Health and Environment. *Journal of Health Promotion*. 2018; 6, 28–36.

Hanson R. W, Hakimi P. Born to run; the story of the PEPCK-Cmus mouse. *Biochimie*. 2008; 90(6), 838–842.

Hendry J. I, Bandyopadhyay A, Srinivasan S, Pakrasi H. B, Maranas C. D. Metabolic model guided strain design of cyanobacteria. *Current Opinion in Biotechnology*. 2020; 64, 17–23.

Hennemann G, Docter R, Krenning E. P. Causes and effects of the low T3 syndrome during caloric deprivation and non-thyroidal illness: an overview. *Acta Med Austriaca*. 1988; 15: 42-45 in Andrade Jr M. C. Metabolism during Fasting and Starvation: Understanding the Basics to Glimpse New Boundaries. *J Nutr Diet*. 2017; 1(1), 1-3.

Hirayama T, Nagasawa H. Advances in Chemical Tools for Exploring Oxidative Stress. Chemical tools for detecting Fe ions. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2017; 60(1), 39–48.

Hiri A. <https://www.les-sahariens.com/abdelkader-hiri-a-tamanrasset-les-gens-appellent-la-spiruline-le-sang-vert/>. 2014.

Hsieh-Lo M, Castillo G, Ochoa-Becerra M. A, Mojica L. Phycocyanin and phycoerythrin: Strategies to improve production yield and chemical stability. *Algal Research.* 2019; 42, 101600.

Jerley A. A, Prabu D. M. Purification, characterization and antioxidant properties of C-Phycocyanin from *Spirulina platensis*. *Scrutiny International Research Journal of Agriculture, Plant Biotechnology and Bio Products.* 2017; 4:2, 1-9.

Jiang L, Wang Y, Yin Q, Liu G, Liu H, Huang Y, Li B. Phycocyanin: A Potential Drug for Cancer Treatment. *Journal of Cancer.* 2017; 8(17), 3416–3429.

Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology.* 2011; 283(2-3), 65–87.

Kamble S. P, Gaikar R. B, Padalia R. B, Shinde K. D. Extraction and purification of C-phycoyanin from dry *Spirulina* powder and evaluating its antioxidant, anticoagulation and prevention of DNA damage activity. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 2013; 3 (08): 149-153.

Kang S. G, Lee H. J, Park Y. M, Choi J. E, Han C, et al. Possible association between the 2548A/G polymorphism of the leptin gene and olanzapine-induced weight gain. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2008; 32: 160-163 in Andrade Jr M. C. Metabolism during Fasting and Starvation: Understanding the Basics to Glimpse New Boundaries. *J Nutr Diet.* 2017; 1(1), 1-3.

Kaur S, Khattar J. I. S, Singh Y, Singh D. P, Ahluwalia A. S. Extraction, purification and characterisation of Phycocyanin from *Anabaena fertilissima* PUPCCC 410.5: as a natural and food grade stable pigment. *Journal of Applied Phycology.* 2019;

Kaur R, Mavi G. K, Raghav S, Khan I. Pesticides Classification and its Impact on Environment. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 2019; 8(3): 1889-1897.

Kayaba M, Park I, Iwayama K, Seya Y, Ogata H, Yajima K, Satoh M, Tokuyama K. Energy metabolism differs between sleep stages and begins to increase prior to awakening. *Metabolism.* 2017; 69, 14–23.

Kerndt P. R, Naughton J. L, Driscoll C. E, LOXTERKAMP D. A. Fasting: The history, pathophysiology and complications (Medical Progress). *West J Med.* 1982; 137:379-399.

Kersten S, Seydoux J, Peters J.M, Gonzalez F.J, Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptor α mediates the adaptive response to fasting. *The Journal of Clinical Investigation.* 1999; 103 (11), 1489-1498.

Khan A. M, Raina R, Dubey N, Verma P. K. Effect of deltamethrin and fluoride co-exposure on the brain antioxidant status and cholinesterase activity in Wistar rats. *Drug and Chemical Toxicology*. 2017; 41(2), 123–127.

Kraus W. E, Slentz, C. A. Exercise Training, Lipid Regulation, and Insulin Action: A Tangled Web of Cause and Effect. *Obesity*, 2009; 17(n3s), S21–S26.

Krieger R, Doull J, Hemmen J. v, Hodgson E, Maibach H, Reiter L, Ritter L, Ross J, Slikker W, Vega H. Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology. Academic Press. 2010; 2342 p.

Kubola, J, Siriamornpun S. Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro. *Food Chemistry*. 2008; 110(4), 881–890.

Kuddus M, Singh P, Thomas G, Al-Hazimi A. Recent Developments in Production and Biotechnological Applications of C-Phycocyanin. *BioMed Research International*. 2013; 2013, 1–9.

Kumar A, Sasmal D, Sharma N. Mechanism of deltamethrin induced thymic and splenic toxicity in mice and its protection by piperine and curcumin: in vivo study. *Drug and Chemical Toxicology*. 2017; 41(1):33-41.

Lafri I, Jemni M, Bensehaila S, Boutekrabort L. Evaluation des méthodes d'extraction de la phycocyanine et son rendement à partir de *SPIRULINA PLATENSIS*. *Agrobiologia*. 2017 ; 7(2) :623-634.

Lee C, Raffaghello L, Brandhorst S, Safdie F.M, Bianchi G, Martin-Montalvo A, Pistoia V, Wei M, Hwang S, Merlino A, Emionite L, de Cabo R, Longo V.D. Fasting cycles retard growth of tumors and sensitize a range of cancer cell types to chemotherapy. *Science Translational Medicine*. 2012; 4 (124), 124-127.

Liangqian J, Yujuan W, Qifeng Y, Guoxiang L, Huihui L, Yajing H, Bing L. Phycocyanin: A Potential Drug for Cancer Treatment. *Journal of Cancer*. 2017; 8(17): 3416-3429.

Longo V. D, Mattson M. P. Fasting: Molecular Mechanisms and Clinical Applications. *Cell Metabolism*. 2014; 19(2), 181–192.

Lo Re O, Panebianco C, Porto S, Cervi C, Rappa F, Di Biase S, Caraglia M, Paziienza V, Vinciguerra M. Fasting inhibits hepatic stellate cells activation and potentiates anti-cancer activity of Sorafenib in hepatocellular cancer cells. *Journal of Cellular Physiology*, 2017; 233 (2), 1202-1212.

Lu Z, Xie J, Wu G, Shen J, Collins R, Chen W, Kang X, Luo M, Zou Y, Huang L. J-S, Amatruda J.F, Slone T, Winick N, Scherer P.E, Zhang C.C. Fasting selectively blocks

development of acute lymphoblastic leukemia via leptin-receptor up regulation. *Nature Medicine*. 2016 ; 23 (1), 79-90.

Martoja R. Martoja M. Initiation aux techniques de l'histologie animale. Ed. Masson et Cie., Paris. 1967 ; 345p in Bitam A. Effets nutritionnels des huiles thermooxydées sur certains paramètres structuraux et fonctionnels chez le rat en croissance. Thèse de doctorat Institut national agronomique. 2005; 104p.

Mattson M.P, Wan R. Beneficial effects of intermittent fasting and caloric restriction on the cardiovascular and cerebrovascular systems. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2005 ;16 (3), 129–137.

Martyniuk, C. J., Mehinto, A. C., & Denslow, N. D. Organochlorine pesticides: Agrochemicals with potent endocrine-disrupting properties in fish. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2020; 110764.

Mazmanci B, Mazmanci M. A, Unyayar A, Unyayar S, Cekic F. O, Deger A. G, Yalin S, Comelekoglu U. Protective effect of *Funalia trogii* crude extract on deltamethrin-induced oxidative stress in rats. *Food Chemistry*. 2011; 125(3), 1037–1040.

Mehlhorn H, Schumacher B, Jatzlau A, Abdel-Ghaffar F, Al-Rasheid K. A. S, Klimpel S, Pohle H. Efficacy of deltamethrin (Butox® 7.5 pour on) against nymphs and adults of ticks (*Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus sanguineus*) in treated hair of cattle and sheep. *Parasitol Res*. 2011; 108: 963–971.

Messini C. I, Malandri M, Anifandis G, Dafopoulos K, Georgoulas P, Sveronis G, Garas A, Daponte A, Messinis I. E. Submaximal doses of ghrelin do not inhibit gonadotrophin levels but stimulate prolactin secretion in postmenopausal women. *Clinical Endocrinology*. 2017; 87 (1), 44–50.

Meyer B. N, Ferrigni N. A, Putnam J. E, Jacobsen L. B, Nichols D. E, McLaughlin J. L. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Journal of Medicinal Plant Research*. 1982; Vol. 45, 31—34.

Miller H. E. A simplified method for the evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 1971; 48(2), 91–91.

Minic S. L, Stanic-Vucinic D, Mihailovic J, Krstic M, Nikolic M. R, Cirkovic Velickovic T. Digestion by pepsin releases biologically active chromopeptides from C-phycocyanin, a blue-colored biliprotein of microalga *Spirulina*. *Journal of Proteomics*. 2016; 147, 132–139.

Mojto V, Gvozdjakova A, Kucharska J, Rausova Z, Vancova O, Valuch J. Effects of complete water fasting and regeneration diet on kidney function, oxidative stress and antioxidants. *Bratislava Medical Journal*. 2018; 119(02), 107–111.

Moraes C. C, Sala L, Cerveira G. P, Kalil S. J. C-Phycocyanin extraction from *spirulina platensis* wet biomass. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 2011; 28(1) :45-49.

Mostafalou S, Abdollahi M. *Pesticides: an update of human exposure and toxicity*. *Archives of Toxicology*. 2016; 91(2), 549–599.

Ncir M, Saoudi M, Sellami H, Rahmouni F, Lahyani A, Makni Ayadi F et al. *In vitro* and *in vivo* studies of *Allium sativum* extract against deltamethrin-induced oxidative stress in rat's brain and kidney. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 2017; 124(3): 207-217.

Nencioni A, Caffa I, Cortellino S, Longo V.D. Fasting and cancer: molecular mechanisms and clinical application. *Nature Reviews Cancer*; 2018.

Nuhu A. *Spirulina (Arthrospira): An Important Source of Nutritional and Medicinal Compounds*. *Journal of Marine Biology*. 2013; 2013:1-8.

Oliveira J.M, Losano N.F, Condessa S.S, Pereira de Freitas R.M, Cardoso S.A, Freitas M.B et al. Exposure to deltamethrin induces oxidative stress and decreases of energy reserve in tissues of the Neotropical fruit-eating bat *Artibeus lituratus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2018; 148: 684–692.

Ozen T, Turkecul I. Antioxidant activities of *Sarcodon imbricatum* wildy grown in the black sea region of Turkey. *Pharmacognosy Magazine*. 2010; 6(22), 89.

Özyürek M, Güçlü K, Tütem E, Başkan K. S, Erçağ E, Esin Çelik S, Baki S, Yıldız L, Karaman S, Apak, R. A comprehensive review of CUPRAC methodology. *Analytical Methods*. 2011; 3(11), 2439.

Pamplona R, Barja G. Mitochondrial oxidative stress, aging and caloric restriction: The protein and methionine connection. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2006; 1757, 496–508.

Patel A, Mishra S, Pawar R, Ghosh P. K. Purification and characterization of C-Phycocyanin from cyanobacterial species of marine and freshwater habitat. *Protein Expression and Purification*. 2005; 40(2), 248–255.

Pisoschi A. M, Negulescu G. P. Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*. 2012; 01(01).

Pouchieu C, Piel C, Carles C, Gruber A, Helmer C, Tual S, Marcotullio E, Lebailly P, Baldi I. Pesticide use in agriculture and Parkinson's disease in the AGRICAN cohort study. *International Journal of Epidemiology*. 2017; 47(1), 299–310.

Quignard E. L. J, Pohlit A. M, Nunomura S. M, Pinto A. C. S, Santos E. V. M, Morais S. K. R, Alecrim A. M, Pedroso A. C. S, Cyrino B. R. B, de Melo C. S, Finney E. K, Gomes E. O, de Souza K. S, de Oliveira L. C. P, Don L. C, e Silva L. F. R, Queiroz M. M. A, Henrique M. C, dos Santos M, Pinto P. S, Silva S. G. Screening of plants found in amazonas state for lethality towards brine shrimp. *jcm iMsraia*. 2003; 33 (1): 93-104.

Raushan H, Raghieb H, Vaqa. Behavioral, neurochemical, and neuromorphological effects of deltamethrin in adult rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 1996; 48(5), 515–516.

Reddy C. M, Bhat V. B, Kiranmai G, Narsa Reddy M, Reddanna P, Madyastha K. M. Selective Inhibition of Cyclooxygenase-2 by C-Phycocyanin, a Biliprotein from *Spirulina platensis*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2000; 277(3): 599–603.

Rehman H, Mohan A, Tabassum H, Ahmad F, Rahman S, Parvez S, Raisuddin S. Deltamethrin Increases *Candida albicans* Infection Susceptibility in Mice. *Scandinavian Journal of Immunology*. 2011; 73: 459–464.

Renugadevi K, Valli Nachiyar C, Sowmiya P, Sunkar S. Antioxidant activity of phycocyanin pigment extracted from marine filamentous cyanobacteria *Geitlerinema sp* TRV57. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2018; 16 (2018) 237–242.

Richardson J. R, Fitsanakis V, Westerink R. H. S, Kanthasamy A. G. *Neurotoxicity of pesticides*. *Acta Neuropathologica* 2019.

Roginsky V, Lissi E. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*. 2005; 92(2), 235–254.

Rojas-Morales P, León-Contreras J.C, Aparicio-Trejo O.E, Reyes-Ocampo J.G, Medina-Campos O.N, Jiménez-Osorio A.S, González-Reyes S, Marquina-Castillo B, Hernández-Pando R, Barrera-Oviedo D, Sánchez-Lozada L.G, Pedraza-Chaverri J, Tapia E. Fasting reduces oxidative stress, mitochondrial dysfunction and fibrosis induced by renal ischemia-reperfusion injury. *Free Radical Biology and Medicine*. 2019.

Safari R, Raftani A. Z, Esmailzadeh K. R, Antioxidant and antibacterial activities of C-phycocyanin from common name *Spirulina platensis*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 2017;

Sánchez-Vioque R, Polissiou M, Astraka K, Mozos-Pascual M. de los, Tarantilis P, Herraiz-Peñalver D, Santana-Méridas O. Polyphenol composition and antioxidant and metal chelating activities of the solid residues from the essential oil industry. *Industrial Crops and Products*. 2013; 49, 150–159.

Sanwal B. D. Allosteric Controls of Amphibolic Pathways in Bacteria. *Bacteriological Reviews*. 1970; 34 (1), 20-39 in Andrade Jr M. C. *Metabolism during Fasting and Starvation: Understanding the Basics to Glimpse New Boundaries*. *J Nutr Diet*. 2017; 1(1), 1-3.

Saranraj P, Sivasakthi S. SPIRULINA PLATENSIS – FOOD FOR FUTURE: A REVIEW. *Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology*. 2014; 4:26-33.

Serban M. C, Sahebkar A, Dragan S, Stoichescu-Hogea G, Ursoniu S, Andrica F, Banach M. A systematic review and meta-analysis of the impact of *Spirulina* supplementation on plasma lipid concentrations. *Clinical Nutrition*. 2016; 35(4): 842-851.

Shah H. K, Sharma T, Banerjee B. D. *Organochlorine pesticides induce inflammation, ROS production, and DNA damage in human epithelial ovary cells: An in vitro study.* *Chemosphere.* 2020; 246, 125691.

Shenkin A. The key role of micronutrients. *Clinical Nutrition.* 2006; 25, 1–13.

Singh S, Kant C, Yadav R. K, Reddy Y. P, Abraham G. Cyanobacterial Exopolysaccharides: Composition, Biosynthesis, and Biotechnological Applications. *Cyanobacteria.* 2019; 347–358.

Sinha S, Patro N, Patro I. K. Maternal Protein Malnutrition: Current and Future Perspectives of Spirulina Supplementation in Neuroprotection. *Front. Neurosci.* 2018; 12:966.

Siva Kiran R. R, Madhu G. M, Satyanarayana S. V. *Spirulina* in combating Protein Energy Malnutrition (PEM) and Protein Energy Wasting (PEW) - A review. *J Nut Res.* 2015; 3(1): 62-79.

Soni R. A, Sudhakar K, Rana R. S. Spirulina – From growth to nutritional product: A review. *Trends in Food Science & Technology.* 2017; 69, 157–171.

Stellman S. D, Stellman J. M. Pyrethroid Insecticides—Time for a Closer Look. *JAMA Internal Medicine.* 2019.

Sulaiman N. S, Rovina K, Joseph V. M. Classification, extraction and current analytical approaches for detection of pesticides in various food products. *Journal of Consumer Protection and Food Safety.* 2019;

Sun Y. Free radicals, antioxidant enzymes, and carcinogenesis. *Biology & Medicine* 1990; 8: 583-599.

Tepe B, Daferera D, Sokmen A, Sokmen M, Polissiou M. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry.* 2005; 90(3), 333–340.

Tokodi N, Drobac D, Lazić G, Petrović T, Marinović Z, Lujčić J, Malešević T.P, Meriluoto J, Svirčev, Z. Screening of cyanobacterial cultures originating from different environments for cyanotoxicity and cyanotoxins. *Toxicon.* 2018; 154, 1–6.

Usharani G, Saranraj P, Kanchana D. Spirulina Cultivation: A Review. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives.* 2012; 3(6): 1327-1341.

Vali Aftari R, Rezaei K, Mortazavi A, Bandani A. R. The Optimized Concentration and Purity of *Spirulina platensis* C-Phycocyanin: A Comparative Study on Microwave-Assisted and Ultrasound-Assisted Extraction Methods. *Journal of Food Processing and Preservation.* 2015; 39(6), 3080–3091.

Van SCHAFTINGEN, E., & GERIN, I. The glucose-6-phosphatase system. *Biochemical Journal*. 2002; 362(3), 513–532.

Vinnakota K. C, Pannala V. R, Wall M. L, Rahim M, Estes S. K, Trenary I, O'Brien T. P, Printz R. L, Reifman J, Shiota M, Young J. D, Wallqvist A. Network Modeling of Liver Metabolism to Predict Plasma Metabolite Changes During Short-Term Fasting in the Laboratory Rat. *Front. Physiol*. 2019; 10:161.

Voet D, Voet J. G, Pratt C. W. *Fundamentals of Biochemistry. Life at the molecular level*. Fifth Edition. WILEY. 2016; 1-1098.

Webber J, Macdonald I. A. The cardiovascular, metabolic and hormonal changes accompanying acute starvation in men and women. *British Journal of Nutrition*. 1994; 71(03), 437.

Wegman M.P, Guo M.H, Bennion D.M, Shankar M.N, Chrzanowski S.M, Goldberg L.A, Xu J, Williams T.A, Lu X, Hsu S.I, Anton S.D, Leeuwenburgh C, Brantly M.L. Practicality of Intermittent Fasting in Humans and its Effect on Oxidative Stress and Genes Related to Aging and Metabolism. *Rejuvenation Research*. 2015; 18 (2), 162–172.

Wei M, Brandhorst S, Shelehchi M, Mirzaei H, Cheng C.W, Budniak J, Groshen S, Mack W.J, Guen E, Di Biase S, Cohen P, Morgan T.E, Dorff T, Hong Kurt, Michalsen A, Laviano A, Longo V.D. Fasting-mimicking diet and markers/risk factors for aging, diabetes, cancer, and cardiovascular disease. *Science Translational Medicine*, 2017; 9 (377), 1-12.

Wilhelmi de Toledo F, Grundler F, Bergouignan A, Drinda S, Michalsen A. Safety, health improvement and well-being during a 4 to 21-day fasting period in an observational study including 1422 subjects. *PLoS ONE*. 2019; 14(1): 1-23.

Wu H. L, Wang G. H, Xiang W. Z, Li T, He H. Stability and Antioxidant Activity of Food-Grade Phycocyanin Isolated from *Spirulina platensis*. *International Journal of Food Properties*. 2016; 19(10), 2349–2362.

Xie Y, Li W, Lu C, Zhu L, Qin S, Du Z. The effects of phycocyanin on bleomycin-induced pulmonary fibrosis and the intestinal microbiota in C57BL/6 mice. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2019.

Yabuta Y, Fujimura H, Kwak C. S, Enomoto T, & Watanabe F. Antioxidant Activity of the Phycoerythrobilin Compound Formed from a Dried Korean Purple Laver (*Porphyra* sp.) during in Vitro Digestion. *Food Science and Technology Research*. 2010; 16(4), 347–352.

Yu P, Wu Y, Wang G, Jia T, Zhang Y. Purification and bioactivities of phycocyanin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2016; 57(18), 3840–3849.

Zacharia J. T. “Identity, Physical and Chemical Properties of Pesticides”, *Pesticides in the Modern World - Trends in Pesticides Analysis*, 2011, Dr. Margarita Stoytcheva (Ed.),

ISBN: 978-953-307-437-5, InTech, Available from:
<http://www.intechopen.com/books/pesticides-in-the-modern-world-trends-in-pesticidesanalysis/identity-physical-and-chemical-properties-of-pesticides>.

Zhang F, Man Y. B, Mo W. Y, Wong M. H. Application of Spirulina in aquaculture: a review on wastewater treatment and fish growth. Reviews in Aquaculture. 2019; 1–18.

<http://www.rcsb.org>

ANNEXE

A LOW-DOSE PROTECTIVE EFFECT OF PHYCOCYANIN ON THE TOXICITY OF DELTAMETHRIN TO VITAL ORGANS IN RATS: IN VIVO STUDY

A. C. Bouzar¹, Y. Benali², A. Bitam¹

¹Food Technology and Human Nutrition Research Laboratory, Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA), El-Harrach, Algiers, Algeria

²Veterinary pathology and cytology laboratory, Pasteur Institute of Algeria

Received: 20 October 2019 / Accepted: 19 December 2019 / Published online: 01 January 2020

ABSTRACT

The study highlights the histopathological alterations of the liver, kidney and heart of female rats exposed to a low dose of deltamethrin (DLM), the potential hepatoprotective, nephroprotective and cardioprotective effects of phycocyanin.

Twenty-four (24) female Albino Wistar rats divided into four groups recognised as follows: Control rats received a standard diet (C). Group (PC) treated with a standard diet enriched with 3.6 ± 0.1 mg of phycocyanin per kg of granules. Group (DLM) treated with a standard diet combined with DLM in water at a concentration of 1.28 mg per kg body weight per day. The remaining group (DLM / PC) was processed by the combination of the DLM and PC scheme.

The toxicity of DLM was revealed by transaminase analysis and histological observation.

The association (DLM + PC) revealed a protective effect of phycocyanin as illustrated by the reduction of the concentration of serum AST and the important decrease of lesions in the tissues studied. Therefore, it shows that PC has a protective action against the toxic effects of DLM.

Keywords: Pyrethroid; phycocyanin; hepatoprotective; nephroprotective; cardioprotective.

Author Correspondence, e-mail: chihebbou@yahoo.fr

doi: <http://dx.doi.org/10.4314/jfas.v12i1.11>



1. INTRODUCTION

Cyanobacteria are unique prokaryotes capable of photosynthesis. In these organisms, phycobilisomes (PBS) act as an antenna of the pigmented photosynthetic apparatus. The latter composed of several phycobiliproteins (PBP) including: phycoerythrin (PE), phycocyanin (PC), allophycocyanin (APC) and phycoerythrocyanin (PEC) [1].

Phycocyanin is one of the main pigments of spirulina alga (cyanobacteria) [2, 3]. PC is composed of a protein and a non-protein component known as phycocyanobilin (PCB), the latter is structurally similar to bilirubin and biliverdin, of open-chain tetrapyrrole form; the origin of the intense blue color characteristic of phycocyanin [2].

A potent antioxidant, phycocyanin is capable of trapping several radicals such as: hydroxyl radicals, peroxy radicals, singlet oxygen, superoxide anions and hydrogen peroxide [2-5].

It stimulates immunity and prevents oxidative damages, which may partly explain its anti-tumor effects [6,7], anti-inflammatory [8,9], hepatoprotective, cardio-protective, neuroprotective [2] and nephroprotective [10]. In regards to nutraceutical, its use has increased rapidly in recent years in the field of biotechnology and pharmaceuticals [1,11], widely used in the food and cosmetics industry as natural blue dye [7], and due to its fluorescence properties, pure PC is used as a marker in immunology, microscopy and cytometry [12].

The intensive use of pesticides is associated with environmental and human impacts with high levels of liver failure, kidney failure, infertility, cancer, immunosuppression and neurological diseases [13]. Among the pesticides are the pyrethroid insecticides, which are the synthetic derivatives of natural pyrethrins obtained from pyrethrum flowers [14], which later became the main substitutes for organophosphorus compounds [15]. Deltamethrin (DLM) is a synthetic pyrethroid type II broad-spectrum [13], chemical formula [-cyano-3-phenoxybenzyl- (1R, S) -Cis, trans-3- (2,2- dibromovinyl) -2,2 dimethylcyclopropanecarboxylate] [16], widely used in the agricultural field to protect vegetables, fruits, also used against pests such as : mites, ants, beetles and weevils [13,17].

In veterinary practice, DLM is used as an ectoparasiticide against mites, flies, ticks and fleas to control vector-borne diseases [18]. DLM has become an insecticide of choice in most countries owing to its high potency against a large number of pests, its rapid degradation and low toxicity

to humans as well as non-target animals [16]. Birds, animals and humans living in the same ecosystem are directly or indirectly exposed to the risk of DLM [19].

A number of studies concerning the side effects of this insecticide have been reported, including hepatotoxicity and neurotoxicity [13], nephrotoxicity [20], cardiovascular abnormalities [21], immunosuppression [22] and side effects on reproduction [14].

Recently, several publications have been the subject of *in vivo* studies on the protective role of *Spirulina* with regards to the toxic effects caused by DLM [13,15,23].

It is assumed that phycocyanin and the powerful antioxidant of *spirulina* could be the origin of the protective effects of *spirulina*.

The main objective of this study is to determine the effects of very low doses of phycocyanin on metabolic abnormalities as well as its antagonistic role on the hepatotoxicity, nephrotoxicity and cardiotoxicity induced by subacute DLM treatment in albino rats.

2. RESULTS AND DISCUSSION

Determination of the purity of C-phycocyanin:

After extraction and purification of the PC from *spirulina*, the degree of purity calculated on the basis of the ratio between the two absorbances at 620 and 280 nm is 0.15 ± 0.04 .

Since A_{620} / A_{280} (0.15) < 0.7 , C-PC is considered food grade [6].

Estimation of phycobiliproteins:

After evaluating the main antioxidant components of phycobiliproteins extracted from *spirulina* [28], the values obtained for C-PC, APC and PE were 0.06 ± 0.02 , 0.03 ± 0.00 and 0.01 ± 0.00 mg / mL respectively.

Restorative effect of phycocyanin on the effects of DLM on serum AST:

The data on transaminase levels in the serum of experimental rats are presented in Tables 1 mentioned below:

Table 1. Effect of DLM and / or PC on serum transaminase levels in rats

Paramètres	Groupes			
	Control n=6	PC n=6	DLM n=6	DLM/PC n=6
AST (UI/L)	140.26±20.17	136.83±16.51	188.66 ±49.78 ^{***}	154.5±17.79 ^{***}
ALT (UI/L)	47.13±8.06	62±7.36	53.44±11.89	50.28±13.23

The values are represented on average \pm standard deviation. Values in the same row with different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$).

Administration of the 0.04% DLM caused a significant increase ($P < 0.01$) in serum AST concentration (DLM group) of 188.66 (IU / L) in comparison with the control group 140.26 (IU / L). The addition of PC to the diet of the DLM-treated rats (DLM / PC group) significantly lowered the serum AST level 154.5 (IU / L), compared with the DLM group after four weeks of treatment (Figure 1).

In contrast, ingestion of DLM did not have significant effects on the concentration of ALT transaminase.

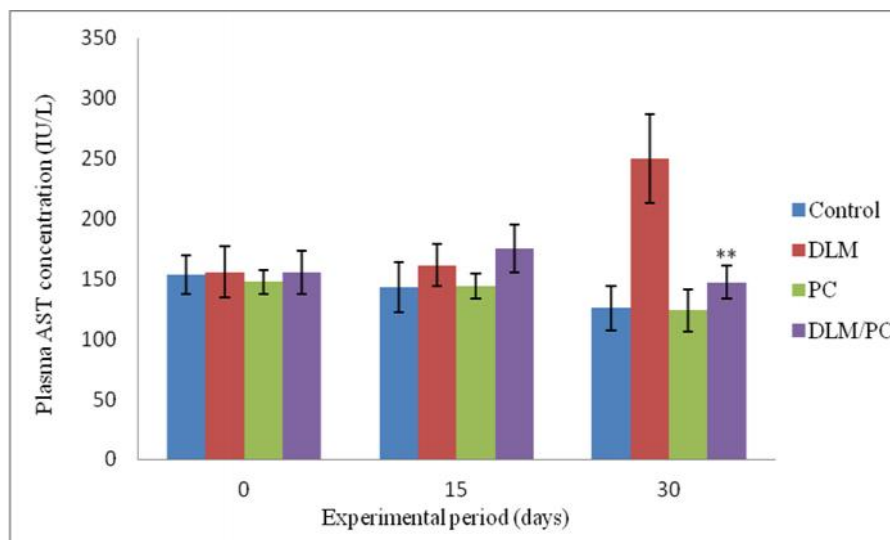


Fig.1. Comparison of serum AST (IU / L) concentrations in female rat groups treated with PC, DLM and DLM / PC and the control group. The values are represented on average \pm standard deviation. Values in the same row with different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$)

Histology:

Subacute intoxication caused by deltamethrin and improvement's effects of phycocyanin were evaluated from histological sections of the liver, kidneys and heart. The liver of DLM-poisoned rats exhibits perivascular hepatocyte degeneration with predominantly centrolobular localization (fig.2 (d)), as well as periportal inflammation of the lymphoplasmacytic type (fig.2 (b)).

Moreover, it is observed that the presence of mixed intraparenchymal inflammatory foci composed of lymphocytes, histiocytes and some neutrophils (fig.2 (c)), as well as the presence of inflammatory cells in the sinusoids (mainly lymphocytes and neutrophils) (fig.2 (b,c)).

Ingesting phycocyanin remarkably decreases the intensity and distribution of hepatocyte degeneration, as well as the intensity and distribution of inflammation (fig.2 (e)).

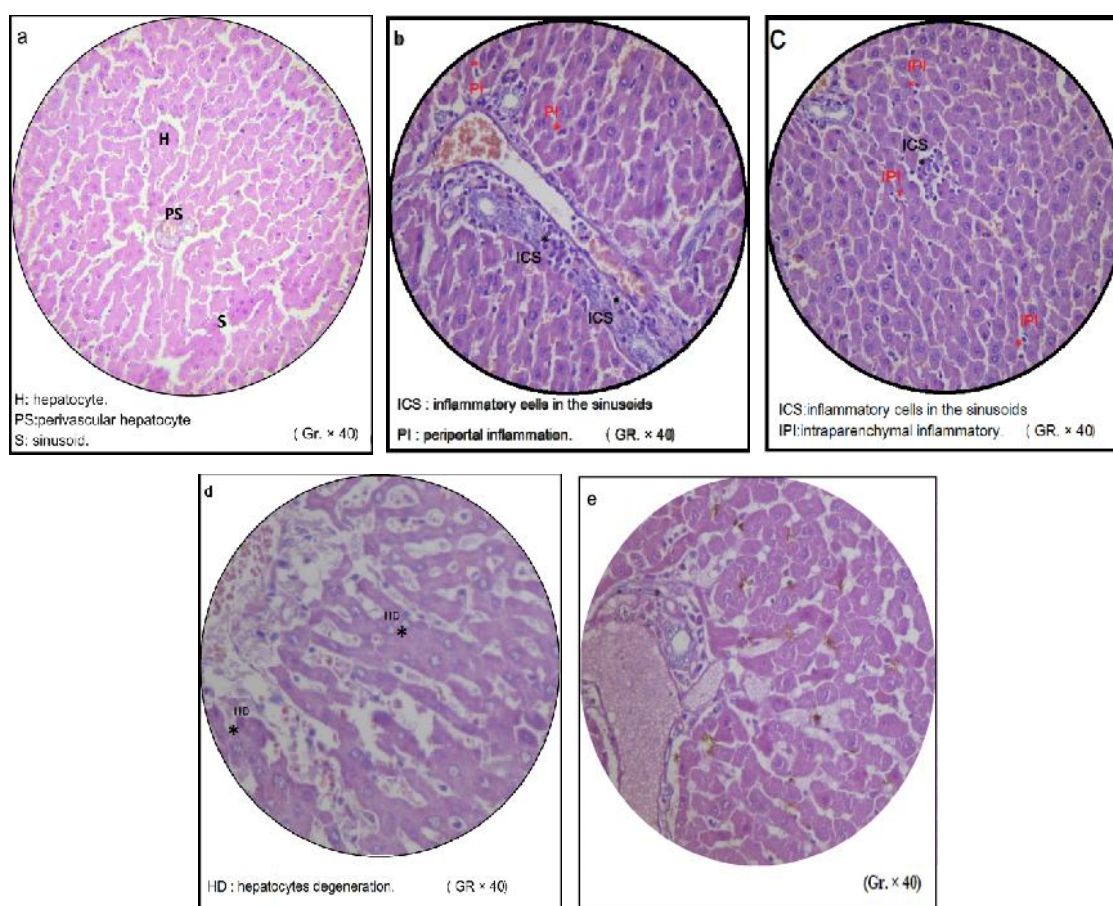


Fig.2. Effects of phycocyanin on DLM-induced hepatotoxicity

The DLM kidney control showed degeneration of tubular epithelial cells (proximal and distal convoluted tubules) (fig.3 (c.d.e)), mesangial cell hyperplasia (fig.3 (b)) and multifocal glomerular retraction (fig.3 (c.e)).

It is marked by a decrease in the frequency and intensity of glomerular retraction, hence, the renal tissue of the DLM/PC group (fig.3 (f)) has a similar appearance to that aspect of the negative control (fig.3 (a)).

More and above, it highlights the decrease in the intensity of mesangial cell hyperplasia and also a slight decline in the intensity of tubular epithelial degeneration compared to the DLM control, this is illustrated below through (Figure 3).

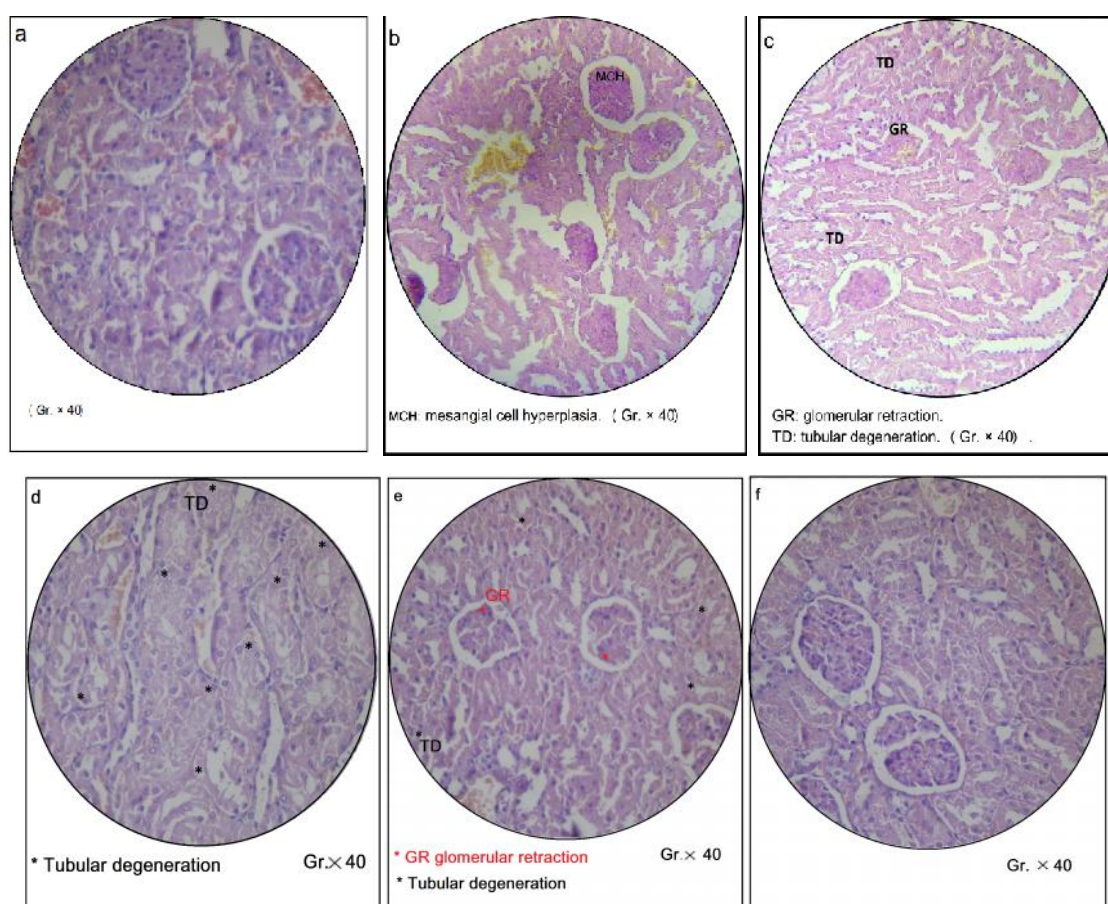


Fig.3. Effects of phycocyanin on nephrotoxicity caused by DLM

The heart tissue of the DLM control is characterized by the presence of interstitial microhemorrhages and the degeneration of the cardiac muscle fibers (fig.4 (b.c.d)). Compared with the DLM control, the cardiac tissue of DLM/PC group shows the persistence of interstitial

microhemorrhages with a decrease in intensity and distribution (fig.4 (e)), as well as the intensity and distribution of cardiac muscle degeneration, shown below in (Figure 4).

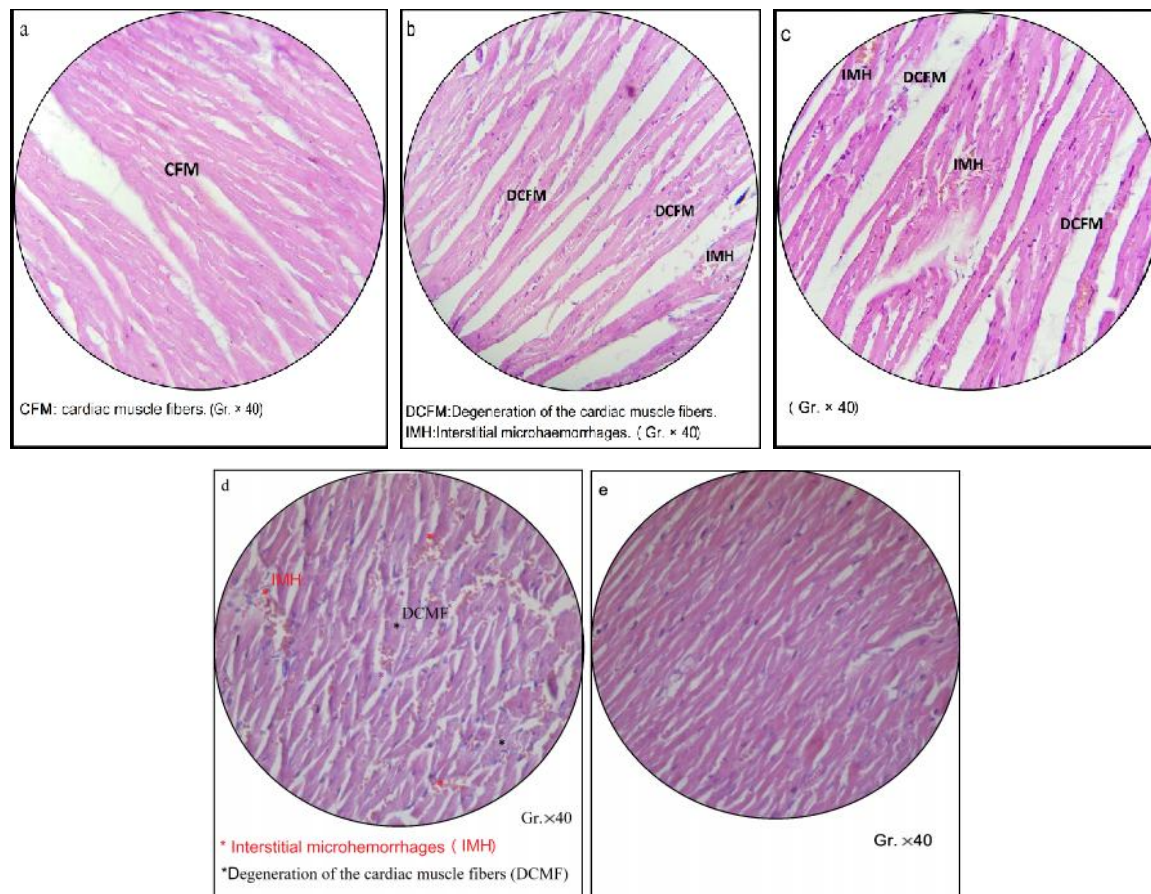


Fig.4. Effects of phycocyanin on cardiotoxicity caused by DLM

Discussion:

The reactive oxygen species (ROS) are continually generated within the animal body due to its exposure to many drugs and xenobiotics from our environment and / or through many endogenous metabolic processes involving enzyme redox and through the mechanism of bioenergetic electron transport [29]. Under normal conditions, there is a balance between the generated ROS and endogenous antioxidants that neutralize them [29]. The harmful effects caused by ROS are resulted from their overproduction that leads to both oxidative stress and chronic inflammation, which induces induces an alteration of cellular functions in return. Therefore, it contributes to the different pathological states [29-31].

DLM has become a useful insecticide in several countries due to its rapid metabolism and low toxicity to humans and non-target animals. On top of this, DLM has a high efficacy on a large bunch of pets [32]. The use of DLM has grown worldwide, in particular, in areas impacted by vector-borne diseases [33].

During pyrethroid metabolism, reactive oxygen species (ROS) are generated, and they then result in oxidative stress in intoxicated animals [14]. It is accepted that DLM has widespread toxic manifestations. DLM induces oxidative damage by producing reactive oxygen species and also by declining the biological activities of renal, hepatic and cerebral enzymatic antioxidants, such as: SOD, CAT and GPx [32,34]. It can cause allergies, hepatotoxicity, nephrotoxicity, genotoxicity and mutagenicity through immunosuppression and infertility [32]. Although several reports on the toxicity of DLM have been published, few studies have been conducted on the use of natural products for the prevention of such toxicity. In the present study, the hepatorenal and cardiac lesions caused by DLM can be attributed to the oxidative stress resulting from the overproduction of free radicals. Plasma determination of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) in DLM-treated rats showed a significant increase ($P < 0.01$) in AST after 30 days and demonstrated no significant soar in ALT during this period.

These results represent damages to heart, liver and kidney dysfunction in DLM-treated rats. These results are consistent with other works, which suggest that DLM induces oxidative stress [15,16,35,36].

In the present study, PC supplementation at a concentration of 0.36% reduced serum AST levels, and this may be due to its high antioxidant activity and its ability to trap free radicals [7]. Due to the fact that the liver is the main organ of various metabolic pathways whereas the kidney is the fundamental organ of excretion of drugs and xenobiotics. This will lead to the toxic effects of chemicals appear mainly in liver and kidney tissues [37].

The histological study confirms the antioxidant properties of the phycocyanin extract. Exposure to deltamethrin caused degeneration of hepatocytes, periportal inflammation, intraparenchymal inflammatory foci, tubular epithelial degeneration, mesangial cell hyperplasia and renal

multifocal glomerular group, which has been exposed to the DLM in order to testify about the hepatorenal involvement.

Histopathological findings confirmed the remarkable protection of PC against hepatitis and DLM-induced nephrotoxicity.

It has been reported that pyrethroids can cause severe toxic cardiovascular events [21].

Throughout this study, it can be observed that the presence of interstitial microhemorrhages and degeneration of cardiac muscle fibers are indicating acute cardiac damages in the exposed group DLM. Histopathological findings also emphasized that the remarkable protection of PC against cardiotoxicity induced by DLM. The hepatorenal and cardiac lesions described in this study are caused by DLM that can be attributed to the increased status of oxidative stress [15]. The hepatoprotective, nephroprotective and cardioprotective effects of phycocyanin could be either direct by decreasing the level of intracellular ROS or by trapping free radicals, including peroxy, and hydroxyl radicals [15]. Moreover, the dependence on its ability to selectively inhibit COX-2 [38], which is indirect by its ability to increase the level of reduced Glutathione (GSH) by improving mitochondrial function and decreasing the activity of intracellular cathepsin B [35]. Therefore, PC could be used as a preventive and therapeutic agent against oxidative diseases of the kidney, liver and heart.

3. EXPERIMENTAL

Chemicals:

Deltamethrin (DECIS 25 EC25 g / L) was purchased as a commercial product formulated by BAYER (Spain), a supplier of active ingredient (Germany). Spirulina (spirulhiri), produced in the south of Algeria (Tamanrasset region), was bought in the form of dried sticks from Eurl HIRI Abdelkader.

Extraction and purification of phycocyanin

It took place at the laboratory of the National Center for Research in Biotechnology (CRBT) of Constantine. The phycocyanin was extracted from Spirulina sample (previously dried as sticks) by maceration and then subjected to freeze / thaw cycles as described below:

- **Extraction:**

The dry biomass was crushed and homogenized using a mixer. For 250 gr of spirulina powder, it was added 2.5 L of phosphate buffer solution (0.05M, pH 7) and then added with sodium azide (1mM this suspension was subjected to two cycles of freezing / thawing for 48 hours [11] and then centrifuged at 15000 rpm at 4 ° C).

- **Purification:**

After the recovery of the supernatant containing the phycocyanin, it is fractionated by precipitation with ammonium sulphate at first 25% and then 50% saturation [24].

The precipitate from 25% saturation of sulphate of ammonium is eliminated [24].

The supernatant is brought to 50% saturation of solid ammonium sulphate. It is remaining for 4 hours at 4 ° C in the dark [24]. The suspension obtained is centrifuged at 15000 rpm at 4 ° C, a supernatant containing phycocyanin is obtained.

Determination of the purity of C-phycocyanin:

The purity of C-phycocyanin is evaluated on the basis of the ratio between the two absorbances at 620 and 280 nm corresponding to those of C-phycocyanin and proteins [25], it is calculated using the following equation [6] :

$$\text{Purity C-PC} = A_{620}/A_{280}$$

Depending on the purity range, C-PC is considered the food grade, reactive or analytical as detailed below [6]:

$A_{620} / A_{280} > 0,7$, la C-PC is considered food grade ;

$0,7 < A_{620} / A_{280} < 3,9$, la C-PC is considered of reagent quality;

$A_{620} / A_{280} < 4,0$, la C-PC is considered of an analytical level.

Estimation of phycobiliproteins:

The dark blue supernatant containing phycobiliproteins was collected. Absorbances of phycobiliproteins were measured on a microplate reader (EnSpire from Perkin Elmer Multimode) at wavelengths 620.652 and 562 nm, for calculating phycocyanin (C-PC), allophycocyanin (APC) and phycoerythrin PE concentrations. The following equations (1-3) have been used [6,26]:

$$\text{C-PC (mg/mL)} = [\text{A620} - 0,474(\text{A652})] / 5,34 \quad (1)$$

$$\text{APC (mg/mL)} = [\text{A652} - 0,208(\text{A620})] / 5,09 \quad (2)$$

$$\text{PE (mg/mL)} = [\text{A562} - 2,41(\text{C-PC}) - 0,849(\text{APC})] / 9,62 \quad (3)$$

Following its extraction, the phycocyanin was lyophilized and then incorporated in the standard pellet diet at an exact rate of 3.6 ± 0.1 mg per kg of granules.

Animals, diet and experimental model:

Twenty-four (24) adult rats (Wistar strain, age: 10-12 weeks, weight: 150-170 g, sex: female) obtained from the Pasteur Institute of Algeria (Kouba Annex). The animal testing was conducted at the animal center of the Research and Development Center of the Algerian pharmaceutical industry SAIDAL (CRD SAIDAL).

The animals were housed in plastic cages with stainless steel grates (06 subjects / cage), food and water were provided ad libitum, maintained under normal temperature conditions (24 ± 2 °C) and humidity (60 - 70%), with a 12 hour light / dark cycle. All animal testing was carried out according to the guidelines of the CRD belonging to the SAIDAL group (Pharmaceutical Industry of Algeria) for the care and experimentation on laboratory animals.

Two weeks later (acclimation period), the rats were randomly divided into four different groups; 6 animals each. During the experimental period, each group was fed with one of the diets shown in Figure 5 below:

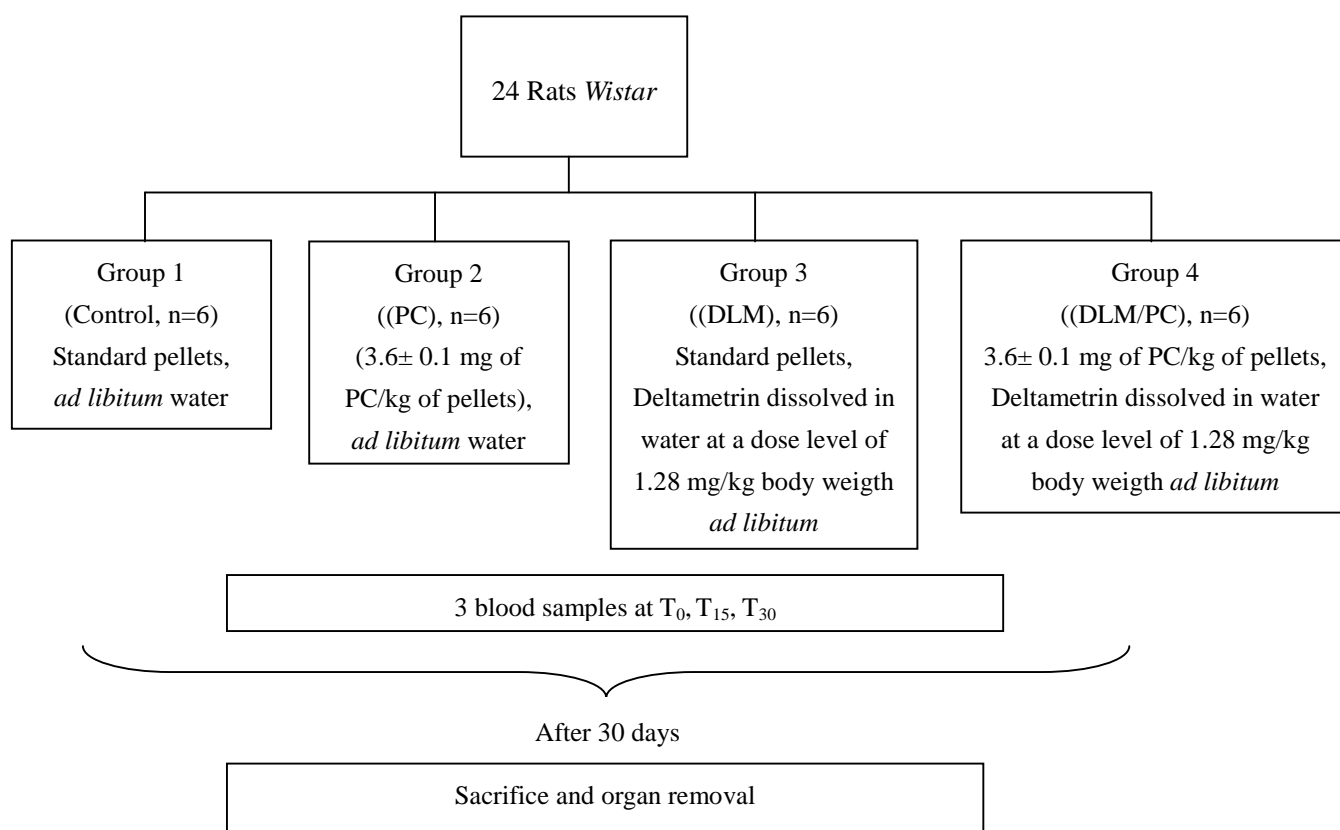


Fig.5. Diagram of the experimental protocol

Blood collection and biochemical analyzes:

Blood samples were collected from the retro-orbital plexus every 15 days following a fast of approximately 18 hours. The blood was centrifuged at 3500 rpm for 15 minutes at room temperature (25 ° C). Plasma was stored in dry tubes at -20 ° C until biochemical assays were performed.

It is monitored that the serum level of transaminases L-aspartate: 2 oxoglutarate Aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT).

In order to have an indication of the degree of tissue involvement of the three target organs, (namely: liver, kidneys and heart), it is by using ADVIA (ADVIA 1800 Chemistry System brand SIEMENS) automated analyzer based on the photometric method.

Organs:

At the end of the experiments (30 days), animals had been fasting for nearly 18 hours and then sacrificed by cervical dislocation. The organs (liver, heart and kidney) were fixed in 10%

buffered formalin (4% v/v formaldehyde, 0.1 M phosphate buffer, pH 7.2) for histological analysis.

Tissue preparation and histological examination:

The fixed tissues were embedded in paraffin, cut into 3 μm sections and then stained with Hematoxylin / Eosin (H&E) (Zidani *et al.* 2016) and examined under a light microscope (Olympus Corporation Model Cx23ledrfs1) Gr x10, x40.

Statistics:

The results are expressed as mean \pm standard deviation. The statistical analyses of the data were carried out using the Microsoft Excel Software (Microsoft Excel 2007). We used the Student Test (t-test) for comparison between means.

4. CONCLUSION

Oxidative stress plays a major role in the toxicity caused by DLM. The protective effect of C-PC against hepatotoxicity, nephrotoxicity and DLM-induced cardiotoxicity was linked with the ability of PC to trap ROS and promote antioxidant activity.

The specific data suggest that the human consumption of PC may be useful for the prevention and / or treatment of hepatorenal, as well as cardiac diseases associated with oxidative stress.

An additional pre-clinical investigation must be performed.

5. ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge those who contributed to the accomplishment of the task (“the National Center for Biotechnology Research of Constantine” and “research and development center of SAIDAL -pharmaceutical industry-”). Not to mention those of the Pasteur Institute of Algeria and the Mustapha Pasha University Hospital Center in Algiers.

6. REFERENCES

[1] Diyana B, Dzhemal M, Plamen S, Detelina B, Rumen M, Ivanka T. Content of phycoerythrin, phycocyanin, allophycocyanin and phycoerythrocyanin in some cyanobacterial strains: Applications. *Eng. Life Sci.* 2018, 0: 1–6, doi: 10.1002/elsc.201800035.

-
- [2] Fernández-Rojas B, Hernández-Juárez J, Pedraza-Chaverri J. Nutraceutical properties of phycocyanin. *Journal of functional foods*. 2014, 11: 375–392, doi: 10.1016/j.jff.2014.10.011.
- [3] Usharani G, Saranraj P, Kanchana D. *Spirulina* Cultivation: A Review. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives.*, 2012, 3(6): 1327-1341
- [4] Kuddus M, Singh P, Thomas G, Al-Hazimi A. Recent Developments in Production and Biotechnological Applications of C-Phycocyanin. *BioMed Research International*. 2013, 2013:1-9, doi: org/10.1155/2013/742859.
- [5] Nuhu A. *Spirulina (Arthrospira)*: An Important Source of Nutritional and Medicinal Compounds. *Journal of Marine Biology*. 2013, 2013:1-8, doi: org/10.1155/2013/325636.
- [6] Liangqian J, Yujuan W, Qifeng Y, Guoxiang L, Huihui L, Yajing H, Bing L. Phycocyanin: A Potential Drug for Cancer Treatment. *Journal of Cancer*. 2017, 8(17): 3416-3429, doi: 10.7150/jca.21058.
- [7] Kamble S. P, Gaikar R. B, Padalia R. B, Shinde K. D. Extraction and purification of C-phycocyanin from dry *Spirulina* powder and evaluating its antioxidant, anticoagulation and prevention of DNA damage activity. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2013, 3 (08): 149-153, doi: 10.7324/JAPS.2013.3826.
- [8] Ghaeni M, Roomiani L. Review for Application and Medicine Effects of *Spirulina*, *Spirulina platensis* Microalgae. *Journal of Advanced Agricultural Technologies*. 2016, 3(2):114-117, doi: 10.18178/joaat.3.2.114-117.
- [9] Serban M. C, Sahebkar A, Dragan S, Stoichescu-Hogea G, Ursoniu S, Andrica F, Banach M. A systematic review and meta-analysis of the impact of *Spirulina* supplementation on plasma lipid concentrations. *Clinical Nutrition*. 2016, 35(4): 842-851, doi: org/10.1016/j.clnu.2015.09.007.
- [10] Fernández-Rojas B, Noel Medina-Campos O, Hernández-Pando R, Negrette-Guzmán M, Huerta-Yepez S, Pedraza-Chaverri J. C-Phycocyanin prevents cisplatin-induced nephrotoxicity through inhibition of oxidative stress. *Food Funct*. 2014, 5(3):480-490, doi: 10.1039/C3FO60501A.
- [11] Moraes C. C, Sala L, Cerveira G. P, Kalil S. J. c-phycocyanin extraction from *spirulina platensis* wet biomass. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 2011, 28(1):45-49, doi:

org/10.1590/S0104-66322011000100006.

[12] Saranraj P, Sivasakthi S. SPIRULINA PLATENSIS – FOOD FOR FUTURE: A REVIEW. Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology., 2014, 4:26-33

[13] Abdel-Daim M, El-Bialy B. E, Abdel Rahman H. G, Radi A. M, Hefny H. A, Hassan A. M. Antagonistic effects of Spirulina platensis against sub-acute deltamethrin toxicity in mice: Biochemical and histopathological studies. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2016, 77: 79–85, doi: org/10.1016/j.biopha.2015.12.003.

[14] Desai K R, Moid N, Patel P B, Highland H N. Evaluation of Deltamethrin induced reproductive toxicity in male Swiss Albino mice. Asian Pacific Journal of Reproduction. 2016, 5(1): 24–30, doi: org/10.1016/j.apjr.2015.12.004.

[15] Abdelkhalek N. K. M, Ghazy E. W, Abdel-Daim M. M. Pharmacodynamic interaction of *Spirulina platensis* and deltamethrin in freshwater fish Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: impact on lipid peroxidation and oxidative stress. Environ Sci Pollut Res. 2014, 22(4): 3023-3031, doi: 10.1007/s11356-014-3578-0.

[16] Chargui I, Grissa I, Bensassi F, Hrira M. Y, Haouem S, Haouas Z, Bencheikh H. Oxidative Stress, Biochemical and Histopathological Alterations in the Liver and Kidney of Female Rats Exposed to Low Doses of Deltamethrin (DM): A Molecular Assessment. Biomed Environ Sci. 2012, 25(6): 672-683, doi: 10.3967/0895_3988.2012.06.009.

[17] Dubey N, Khan A. M, Raina R. Sub-acute Deltamethrin and Fluoride Toxicity Induced Hepatic Oxidative Stress and Biochemical Alterations in Rats. Bull Environ Contam Toxicol. 2013, 91(3): 334-338, doi: 10.1007/s00128-013-1052-1.

[18] Mehlhorn H, Schumacher B, Jatzlau A, Abdel-Ghaffar F, Al-Rasheid K. A. S, Klimpel S, Pohle H. Efficacy of deltamethrin (Butox® 7.5 pour on) against nymphs and adults of ticks (*Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus sanguineus*) in treated hair of cattle and sheep. Parasitol Res. 2011, 108: 963–971, doi: 10.1007/s00436-010-2141-2.

[19] Abdel-Daim M. M, El-Ghoneimy A. Synergistic protective effects of ceftriaxone and ascorbic acid against subacute deltamethrin-induced nephrotoxicity in rats. Ren Fail. 2015, 37(2): 297–304, doi: 10.3109/0886022X.2014.983017.

-
- [20] Chandra N, Jain N. K, Sondhia S, Srivastava A. B. Deltamethrin Induced Toxicity and Ameliorative Effect of Alpha-Tocopherol in Broilers. Bull Environ Contam Toxicol. 2013, 90:673–678, doi: 10.1007/s00128-013-0981-z.
- [21] De la Cerda E, Navarro-Polanco R. A, Sánchez-Chapula J. A. Modulation of Cardiac Action Potential and Underlying Ionic Currents by the Pyrethroid Insecticide Deltamethrin. Archives of Medical Research. 2002, 33: 448–454, doi: org/10.1016/S0188-4409(02)00389-2.
- [22] Rehman H, Mohan A, Tabassum H, Ahmad F, Rahman S, Parvez S, Raisuddin S. Deltamethrin Increases *Candida albicans* Infection Susceptibility in Mice. Scandinavian Journal of Immunology. 2011, 73: 459–464, doi: 10.1111/j.1365-3083.2011.02521.x.
- [23] Abdel-Daim M. M, Abuzead S. M. M, Halawa S. M. Protective Role of *Spirulina platensis* against Acute Deltamethrin-Induced Toxicity in Rats. PLOS ONE. 2013, 8:1-7, doi: 10.1371/journal.pone.0072991.
- [24] Patel A, Mishra S, Pawar R, Ghosh P.K. Purification and characterization of C-Phycocyanin from cyanobacterial species of marine and freshwater habitat. Protein Expression and Purification. 2005, 40: 248–255, doi: 10.1016/j.pep.2004.10.028.
- [25] Vali Aftari R, Rezaei K, Mortazavi A, Reza Bandani A. THE OPTIMIZED CONCENTRATION AND PURITY OF SPIRULINA PLATENSIS C-PHYCOCYANIN: A COMPARATIVE STUDY ON MICROWAVE-ASSISTED AND ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION METHODS. Journal of Food Processing and Preservation. 2015, 39: 3080–3091, doi: 10.1111/jfpp.12573.
- [26] Bennett A, Bogorad L. COMPLEMENTARY CHROMATIC ADAPTATION IN A FILAMENTOUS BLUE-GREEN ALGA. THE JOURNAL OF CELL BIOLOGY VOLUME. 1973, 58: 419-435, doi: 10.1083/jcb.58.2.419.
- [27] Zidani S, Benakmoum A, Ammouche A, Benali Y, Bouhadeb A, Abbeddou S. Effect of dry tomato peel supplementation on glucose tolerance, insulin resistance, and hepatic markers in mice fed high-saturated-fat/high-cholesterol diets. Journal of Nutritional Biochemistry. 2016, 40:164–171, doi: 10.1016/j.jnutbio.2016.11.001.
- [28] Aissaoui O, Amiali M, Bouzid N, Belkacemi K, Bitam A. Effect of *Spirulina platensis* ingestion on the abnormal biochemical and oxidative stress parameters in the pancreas and liver

of alloxan-induced diabetic rats. *PHARMACEUTICAL BIOLOGY*. 2017, 55(1):1304–1312, doi: 10.1080/13880209.2017.1300820.

[29] Sun Y. FREE RADICALS, ANTIOXIDANT ENZYMES, AND CARCINOGENESIS. *Free Radical Biology and Medicine*. 1990, 8: 583-599, doi: 10.1016/0891-5849(90)90156-d.

[30] Dupuis C, Berthon J.Y, Larue J, Rougé S, Filaire M, Filaire E. Effects of 6 weeks of betaine or C-phycocyanin supplementation associated or not with wheel running on redox status. *SCISPO*. 2018, 33(1):47-55, doi: org/10.1016/j.scispo.2017.08.006.

[31] Fedekar Madkour F, ABDEL-DAIM M. M. Hepatoprotective and Antioxidant Activity of *Dunaliella salina* in Paracetamol-induced Acute Toxicity in Rats. *Indian J Pharm Sci*. 2013, 75(6):642-648, doi: 10.4103/0250-474X.124747.

[32] Abdou R.H, Abdel-Daim M.M. Alpha-lipoic acid improves acute deltamethrin-induced toxicity in rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2014, 92(9):773-779, doi: 10.1111/j.1346-8138.2010.00859.x.

[33] Kumar A, Sasmal D, Sharma N. Mechanism of deltamethrin induced thymic and splenic toxicity in mice and its protection by piperine and curcumin: in vivo study. *DRUG AND CHEMICAL TOXICOLOGY*. 2017, 41(1):33-41, doi: org/10.1080/01480545.2017.1286352.

[34] Ncir M, Saoudi M, Sellami H, Rahmouni F, Lahyani A, Makni Ayadi F et al. *In vitro* and *in vivo* studies of *Allium sativum* extract against deltamethrin-induced oxidative stress in rats brain and kidney. *ARCHIVES OF PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY*. 2017, 124(3) : 207-217, doi: org/10.1080/13813455.2017.1376335.

[35] Abdel-Daim M. M, Abd Eldaim M. A, Mahmoud M. M. *Trigonella foenum-graecum* protection against deltamethrin-induced toxic effects on haematological, biochemical, and oxidative stress parameters in rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2014, 92(8) : 679–685, doi: org/10.1139/cjpp-2014-0144.

[36] Oliveira J.M, Losano N.F, Condessa S.S, Pereira de Freitas R.M, Cardoso S.A, Freitas M.B et al. Exposure to deltamethrin induces oxidative stress and decreases of energy reserve in tissues of the Neotropical fruit-eating bat *Artibeus lituratus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2018, 148: 684–692, doi: org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.024.

[37] Azab S. S, Abdel-Daim M, Eldahshan O.A. Phytochemical, cytotoxic, hepatoprotective and antioxidant properties of *Delonix regia* leaves extract. *Med Chem Res.* 2013, 22: 4269–4277 in Abdel-Daim M. M, Abuzead S. M. M, Halawa S. M. Protective Role of *Spirulina platensis* against Acute Deltamethrin-Induced Toxicity in Rats. *PLOS ONE.* 2013, 8:1-7, doi: 10.1007/s00044-012-0420-4.

[38] Reddy C. M, Bhat V. B, Kiranmai G, Narsa Reddy M, Reddanna P, Madyastha K. M. Selective Inhibition of Cyclooxygenase-2 by C-Phycocyanin, a Biliprotein from *Spirulina platensis*. *BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS.* 2000, 277(3): 599–603, doi: 10.1006/bbrc.2000.3725.

How to cite this article:

Bouzar AC, Benali Y, Bitam A. A low-dose protective effect of phycocyanin on the toxicity of deltamethrin to vital organs in rats: in vivo study. *J. Fundam. Appl. Sci.*, 2020, 12(1), 149-166.



ATTESTATION DE PARTICIPATION

La présidente du **Séminaire International Environnement et Toxicologie « Siveutox'2019 »**
qui a eu lieu à Constantine le 18 et 19 février 2019, atteste que :

Mme/Melle/Mr : **BOUZAR Ahmed Chihab**
a participé avec une communication orale
Intitulée : Effet protecteur d'une dose homéopathique de la phycocyanine sur la toxicité induite par la deltaméthrine
chez le rat

Co-auteurs : Benali Yasmine , Bitam Arezki.

Présidente du comité scientifique

Pr. AFRI-MEHENNAOUI Fatima Zohra



Université Frères Mentouri Constantine

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة

Laboratoire de Biologie et Environnement

مغبر البيولوجيا و البيئية

Présidente du séminaire

Pr. AMEDDAH Souad





9^{ème} Rencontre Internationale de Toxicologie

Oran, 16 - 18 novembre 2019

Société Algérienne
de Toxicologie



Laboratoire de Recherche
en Santé Environnement

Attestation

La présidente du comité d'organisation atteste que la communication affichée (POSTER) :

Effet protecteur du jeûne alimentaire sur la toxicité induite par la deltaméthrine chez le rat.


Bouzar A.C.¹, Benali Y.², Bitam A.¹

¹Laboratoire de recherche en technologie alimentaire et nutrition humaine, école nationale supérieure agronomique (ensa), El-Harrach, Alger.

²Laboratoire de cytologie et de pathologie vétérinaire, institut pasteur annexe de ruisseau, Alger.

A été présentée lors de la 9^{ème} Rencontre Internationale de Toxicologie qui s'est tenue à Oran, du 16 au 18 novembre 2019.

La présidente de séance


Dr. NABILA BACI
EPIDEMIOLOGISTE
MÉTÉOROLOGISTE
Sciences Toxicologie
EHU Oran

La présidente de la 9^{ème} RIT


Université Oran - 1
LABORATOIRE DE RECHERCHE
EN SANTÉ ENVIRONNEMENT
PR REZK - KALLAH HACIBA
Directrice