

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS
DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire/ Biologie moléculaire des procaryotes

Thème

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'EFFET DU ZINC SUR LA TOXICITE
DU SULFATE DE NICKEL CHEZ LES LAPINS

Aspect Biochimique et Hématologique

Présenté par :

- OUCHENNE Soumia
- AGGOUN Kenza

Devant le jury composé de :

- Président : M. BENOUARTH Djamel Eddine (Pr)
- Examineur : Mme.BOUABID-RAHMANI Ryma (M.A)
- Encadreur : Mme.AYAD Hayette (M.A)

Juin 2011



Remerciement :

La réalisation de ce mémoire fut une occasion merveilleuse de rencontrer et d'échanger avec de nombreuses personnes

Avant tous nous remercions dieu, le clément, le miséricordieux qui nous a donné la patience et l'énergie pour la réalisation de cet humble travail.

*A notre encadreur et rapporteur de mémoire
Madame AYAD Hayat
Maitre assistant A Université de Guelma*

*Vous avez bien voulu nous confier ce travail riche d'intérêt et
Nous guider à chaque étape de sa réalisation.*

*Vous nous avez toujours réservé le meilleur accueil, malgré vos
Obligations professionnelles.*

*Vos encouragements inlassables, votre amabilité, votre
Gentillesse méritent toute admiration.*

*Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre
Profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect.*

*A Mme MIRABÉT Rym
Maitre Assistant A Université Guelma*

*Nous vous remercions pour votre estimable participation dans
l'élaboration de ce travail.*

*Permettez nous de vous exprimer notre admiration pour vos
qualités humaines et professionnelles.*

*Veillez trouver ici l'expression de notre estime et notre
considération.*





*Nous exprimons notre profonde et respectueuse gratitude à
Mr. Benouareth Djamel Eddine, professeur à l'Université de Guelma qui nous a fait
L'honneur de présider notre jury de mémoire.*

Nous tenons à remercier par le biais de ce mémoire les membres de jury :

L'examinatrice :

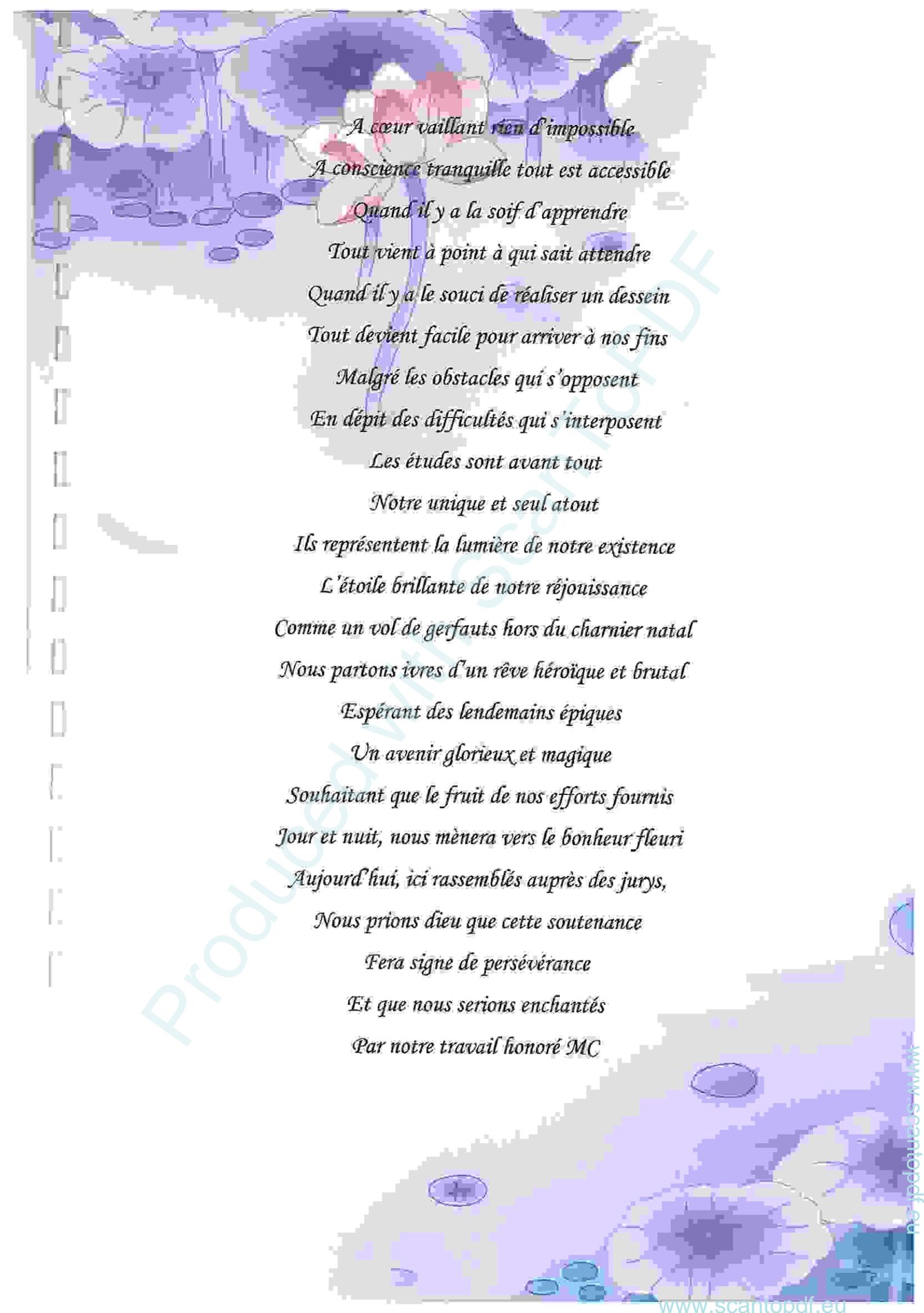
BOUABIDE RAHMANI RIMA

*Nous adressons nos vifs et sincères remerciements au Dr. ZEKRI Kamel Qui nous
pourvoit de conseils et de matériels*

*Nous tenons également à remercier tous nos enseignants du département de biologie
qui ont allumé notre chemin de savoir.*

*A toute personne qui a contribué de près ou de loin à réaliser ce modeste travail
surtout CHERCHAR Azzedine, KHALFALLAH Hamza et DJAMAA Mohamed.*





*A cœur vaillant rien d'impossible
A conscience tranquille tout est accessible
Quand il y a la soif d'apprendre
Tout vient à point à qui sait attendre
Quand il y a le souci de réaliser un dessein
Tout devient facile pour arriver à nos fins
Malgré les obstacles qui s'opposent
En dépit des difficultés qui s'interposent
Les études sont avant tout
Notre unique et seul atout
Ils représentent la lumière de notre existence
L'étoile brillante de notre réjouissance
Comme un vol de gerfauts hors du charnier natal
Nous partons ivres d'un rêve héroïque et brutal
Espérant des lendemains épiques
Un avenir glorieux et magique
Souhaitant que le fruit de nos efforts fournis
Jour et nuit, nous mènera vers le bonheur fleuri
Aujourd'hui, ici rassemblés auprès des jurys,
Nous prions dieu que cette soutenance
Fera signe de persévérance
Et que nous serions enchantés
Par notre travail honoré MC*

Je dédie cette thèse à ... ✍

A ma très chère mère **AZIZA**

Affable, honorable, aimable: Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon. Très Chère Père **AZIZ**

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A la mémoire de ma grande Mère

ARbia qui a tant sacrifié pour nous.

A mes très chère sœurs

ISRA , ROFAIDA

A mes très chère frère

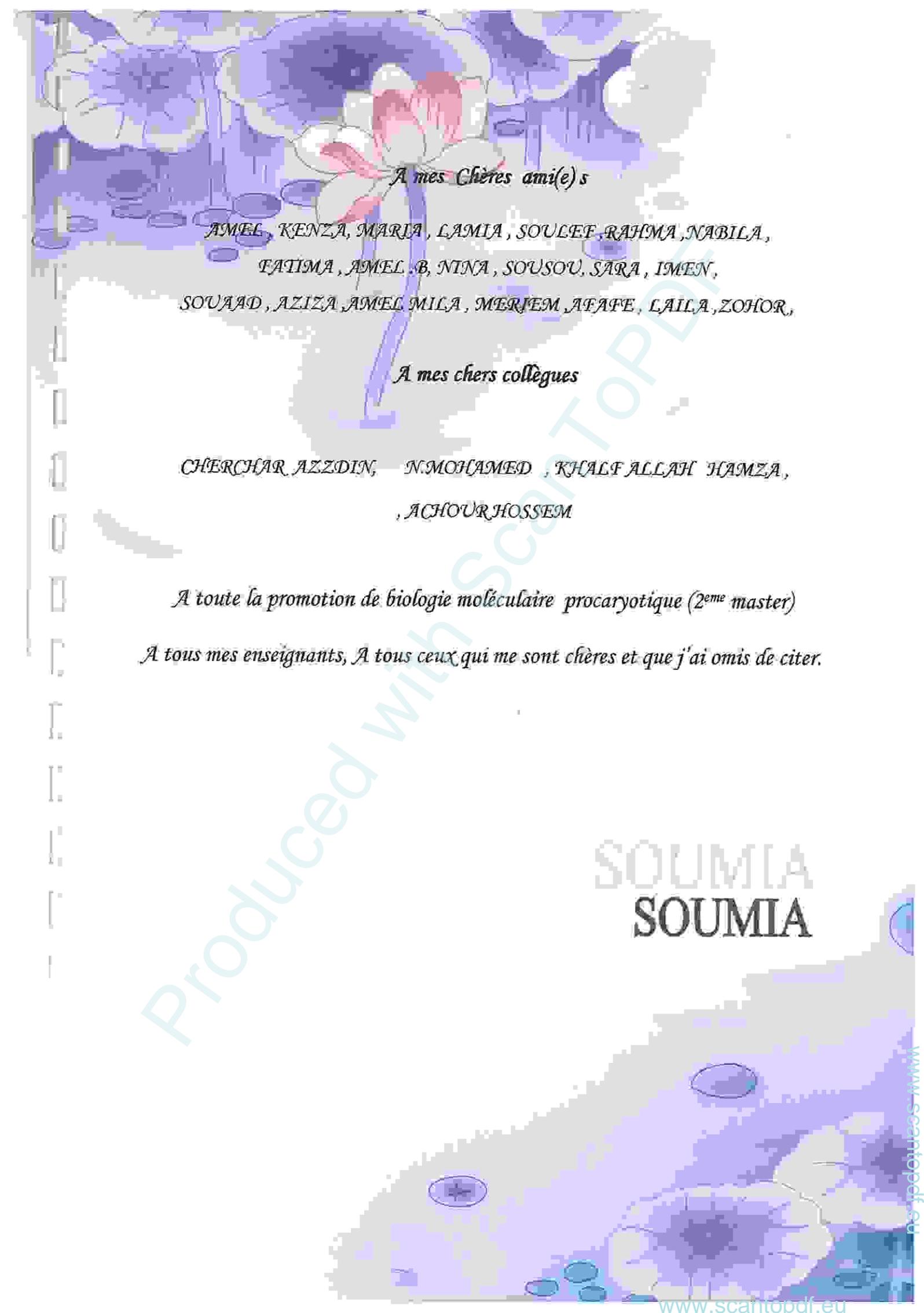
YESSER,

AKRAMAMINE,

STRADJ EDDINE

A tous les membres de ma famille

petits et grands. Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection



A mes Chères ami(e)s

AMEL, KENZA, MARIA, LAMIA, SOULEF, RAHMA, NABILA,
FATIMA, AMEL .B, NINA, SOUSOU, SARA, IMEN,
SOUAD, AZIZA, AMEL MILA, MERJEM, AFAFE, LAILA, ZOHOR,

A mes chers collègues

CHERCHAR AZZDIN, N.MOHAMED, KHALF ALLAH HAMZA,
, ACHOUR HOSSEM

A toute la promotion de biologie moléculaire procaryotique (2^{eme} master)

A tous mes enseignants, A tous ceux qui me sont chères et que j'ai omis de citer.

SOUMIA
SOUMIA

Dédicace

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il

Faut

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour,

Le respect, la reconnaissance.

Aussi, c'est tout simplement que :

Je dédie ces thèses à...

A mon très cher père

ALLAOUA

Aucun mot ne saurait exprimer tout mon amour et toute

Ma gratitude.

Merci pour tes sacrifices le long de ces années.

A ma très chère mère

HOURIA

Je ne trouverai jamais de mots pour t'exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour, la tendresse et surtout pour ta présence dans mes moments les plus difficiles, et si j'en suis arrivée là ce n'est que grâce à toi ma maman adorée

A mes deux chers frères

FOUZI : et son épouse ZAHRA

ABD ELOUHAB : et son épouse FAIZA

Ames chères sœurs

SALIMA : et son époux YACIN

LAMIA : et son époux RIAD

Chaleureusement et Spécialement à ma petite sœur IMEN

À mes nouveaux et nièces :

MOUHAMED DHIA EDINNE, MOUHIB ARAHMAN, YACMINE

À mes très chères amies :

*SOUMIA, FERDOUS, HANA, SOUSOU, AMEL, LAMIA, RABIA,
AFAF, NADIA, HIBA, SALIMA, RADIA, IMEN, MERIEM, AWATIF,
SARAH, AZIZA, LAILA, ZHOUR,*

À tout les membres de ma promotion

À tous mes enseignants, À tous ceux qui me sont chères et que j'ai omis de citer.

KENZA

Produced with

Sommaire

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste d'abréviation	
Introduction	01
Chapitre I : Les métaux et leur toxicité :	
I-Introduction	03
I-1-Les métaux dans l'environnement	04
I-2- Généralités	04
I-3-Bioaccumulation et métabolisme	07
I-3-1-Etude chez l'homme	07
I-3-2- Chez l'animal	08
I-4-Toxicologie aiguë	08
I-4-1- Etude chez l'homme	08
I-4-2-Etude chez l'animal	10
I-5-Toxicologie chronique	11
I-5-1- Etude chez l'homme	11
I-5-2- Chez l'animal	11
I-6-Toxicologie subchronique	12
I-7- Reprotoxicité et tératogenèse	13
I-8- Mutagénicité, génotoxicité, et cancérogénicité	13
I-9- Manifestations allergiques	14
Chapitre II : II-Le stress oxydatif	
I-Introduction	15

Sommaire

II-1-Définition	15
II-2-Les dérivés réactifs de l'oxygène	15
II-2-1-Définition	15
II-2-2-Formation des dérivés actifs de l'oxygène	16
II-2-3-Les cibles des dérivés actifs de l'oxygène	18
a- les cibles lipidiques	18
a-1- la peroxydation lipidique	19
a-2 -les conséquences de la peroxydation lipidique	20
b- Les cibles non lipidiques	21
b-1-Oxydation des protéines	21
b-2- Oxydation des glucides	23
b-3- Les altérations de l'ADN	23
II-3-Implication du stress oxydant dans les pathologies	24
II-3-1-Stress oxydant et maladie d'Alzheimer	24
II-3-2-Stress oxydant et maladie de Parkinson	24
II-3-3- Stress oxydant et cancer	25
Chapitre III :Les systèmes de protection	
III-1- Les antioxydants enzymatiques	26
a- Les superoxydes dismutases	26
b- La catalase	26

Sommaire

c -Les glutathion peroxydases	27
III-2-Les antioxydants non enzymatiques	28
a- Les antioxydants liposolubles.....	28
a-1- La vitamine E	29
b- Les antioxydants hydrosolubles	29
b-1- La vitamine C.....	29
b-2-Le glutathion	30
b-2-1- Fonctions antioxydantes du glutathion	30
III-3- Les oligoéléments	31
III-4- le zinc.....	32
III-4-1- Identification de zinc	32
III-4-2-Toxicocinétique-métabolique	32
III-4-3- Zinc et physiopathologie	33
a- Propriétés antioxydantes du zinc	33
b- Carence en zinc et stress oxydant.....	34
c- Apports nutritionnels.....	35

Chapitre IV : Matériel et méthodes :

IV-1 Matériel36.

IV-2 Méthodes d'analyse.....37

Chapitre V : Résultats et discussions

V-1- Résultats46.

V-2- Discussions55

Conclusion58

RESUME

REFERANCES BIBLIOGRATIQUE

Produced with ScantOPDF

Liste des tableaux et liste des figures

❖ Liste des tableaux :

Tableau I-1 : Identification et caractérisation des différentes formes physiques et chimiques du nickel.....	05
Tableau I- 2 : Concentration ubiquitaire en nickel.....	06
Tableau I-3 : Valeurs de CL50 et DL50 des composés de nickel.....	10
Tableau III-1 : Etudes expérimentales sur les effets d'une carence en zinc sur les paramètres du Statut oxydant.....	34
Tableau III-2: Exemple de teneur d'aliments en Zinc.....	35
Tableau VI-1: Volumes utilisés pour la détermination des paramètres biochimiques.....	38
Tableau VI-2 : Solutions utilisées dans les dosages des paramètres biochimiques	39
Tableau V-1: Valeurs moyenne et écarts types moyens (SEM), des transaminases (TGO/TGP) déterminées dans le sang des lapins soumis à l'influence des doses de nickel ; nickel/zinc.et du sérum salée.....	46
Tableau V-2: Valeurs moyennes et écarts types moyens (SEM) des taux d'urée , de créatinine sérique déterminées dans le sang des lapins soumis à l'influence des doses de nickel, nickel/zinc et du sérum salée	48
Tableau V-3 : Valeurs moyennes et écart types des concentrations des paramètres du profil énergétique déterminés dans le sang des lapins soumis à l'influence des doses de nickel ; zinc nickel et du sérum salée.....	50
TableauV-4: Valeurs moyennes et écarts types moyens, des paramètres hématologiques déterminés chez le lapins soumis à l'influence des doses de nickel, zinc nickel et du sérum salé.....	52

Liste des tableaux et liste des figures

❖ Liste des figures :

Figure II-1 : production du ROS dans la cellule.....	17
Figure II-2 : Réactions de la peroxydation lipidique.....	20
Figure II-3 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales, d'acides aminés des Protéines après attaque radicalaire	22
Figure II- 4 : Principales classes de dommages de l'ADN	23
Figure III-1 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques Antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques	28
Figure III-2 : Structures et du glutathion réduit (GSH) du glutathion oxydé(GSSG)	30
Figure III-3 :Synthèse enzymatique du glutathion d'après (Dickinson and Forman 2002).....	30
Figure IV-1: le coulter hématologique.....	45
Figure V-1: Variation des transaminases sériques, chez les lapins témoins et traités, pendant 2 semaines chez les lapins traités par le nickel (20ug/Kg, zinc -nickel (100+20) mg/Kg et du sérum salé salé 9‰ par voie intrapéritonéale. Les valeurs présentent la moyenne \pm SEM pour chaque groupe (sept déterminations), $p < 0,05$ et $0,001$ respectivement.	47
Figure V-2 : Changements sériques des marqueurs rénaux : urée, créatinine pendant 15 jour des lapins traités par le nickel (20ug/Kg) ; nickel-zinc (20+100 ug/Kg) et le sérum salé 9‰ par voie intrapéritonéale. Les valeurs présentent la moyenne \pm SEM pour chaque groupe (cinq déterminations). $p < 0,001$	49
Figure V-3: Changements sériques des paramètres du profil énergétiques : glucose, protéines totales, pendant 2 semaines chez les lapins traités par le nickel (20ug/Kg, zinc -nickel (100+20) mg/Kg et du sérum salé salé 9‰ par voie intrapéritonéale. Les valeurs présentent la moyenne \pm SEM pour chaque groupe (sept déterminations). $p < 0,05$ et $0,001$ respectivement.	51

Liste des tableaux et liste des figures

Figure V-4: Variations des paramètres hématologiques :GB ;GR ;Hb ;HCT ; VGM du pendant 15 jours des Lapais traités par le nickel(20ug/Kg), zinc-nickel (100+20 ug/Kg) et le sérumsalé (9%) par voie intrapéritonéale. Les valeurs présentent la moyenne \pm SEM pour chaque groupe (sept déterminations).p < 0.001et0.05. 54

Produced with ScanTOPDF

Liste d'abréviation :

ADN: acide désoxyribonucléique

CAT: catalase

Cu : Cuivre

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acide

ERO: Espèces réactives de l'oxygène

Fe: fer

GP_x: Glutathion peroxydase

GSH: : Glutathion réduit

GSSE: Glutathion oxydé

HOO[·]: radical hydroperoxyde

H₂O₂: peroxyde d'hydrogene

4-HNE : 4-hydroxy-2,3-nonénal

MDA : dialdéhyde malonique

NADPH: Nicotinamide dinucleotide phosphate

NO: monoxide d'azote

O₂^{-·} : anion superoxyde

¹O²: oxygen singlet

O³: Ozone

OH[·] : Radical hydroxyl

ONOO⁻: anion peroxydinitrite

PS: phosphatidyl sérine

PE: phosphatidyléthanolamine

RO[·]: radical alkoxyle

ROO[·] : Radical peroxyde

SH: groupement thiols

SOD: superoxyde dismutase

Introduction

Introduction.

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahie par un nouveau concept, celui « **stress oxydant** » c'est-à-dire une situation où la cellule ne contrôle pas la présence excessive des radicaux oxygénés toxiques. Ces radicaux sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme mais à dose raisonnables ; mais la production peut devenir excessive ou résulter d'un phénomène exogène tel que les métaux lourds. [1].

La toxicité des métaux lourds est principalement due à leur réactivité élevée ; ils sont capables d'interagir et de détruire les parois cellulaires, les protéines et l'ADN. Cependant la toxicité varie selon la forme chimique du métal.

Le nickel est un élément trace, ses applications industrielles sont nombreuses : production des batteries, alliages métalliques, industries du tabac, de céramiques, fabrication des organes artificiels et de prothèse dentaires, etc. les ions Ni^{+2} ont des effets hépatotoxiques, néphrotoxiques et carcinogènes sur la santé publique comparable à ceux d'autres métaux. L'accumulation de ce corps toxiques dans l'organisme est susceptible de déclencher une réaction de défense. Par ailleurs, les cellules ont développé pour métaboliser les radicaux libres et ainsi limiter les dégâts qu'ils provoquent. On distingue les défenses enzymatiques (superoxydes dismutases, la catalase et les glutathion peroxydases), les antioxydants non enzymatiques - glutathion, vitamine C et E, et les B carotènes et les oligoéléments (cuivre, le zinc, le magnésium et le sélénium). Ces molécules ont la propriété de piéger et de détruire les espèces réactives de l'oxygène.

Pour la plus part des organismes vivant le zinc est un oligoélément essentiel qui joue le rôle d'antioxydant [2]. Son rôle dans l'organisme semble très lié à la détoxification des dérivés réactifs de l'oxygène et particulièrement les peroxydes (hydroperoxydes, peroxy-nitrites, peroxy-lipides, etc.) par les glutathions peroxydases.

L'objectif de ce travail était de mettre en évidence l'effet du sélénium sur le stress oxydant induit par ce corps toxique sur le métabolisme. L'hypothèse expérimentale issue des données de la littérature, était que le sélénium pourrait jouer un rôle antagoniste dans les complications métaboliques associés au nickel.

Ce manuscrit comporte trois sections

La première section est une étude bibliographique : le premier chapitre est consacré au métaux lourds dont on a cité le nickel. Il est ensuite abordé le stress oxydant, en particulier

Introduction

les cibles du stress et les systèmes de protection .le dernier chapitre traite le zinc :ces composés son métabolisme etc.

La seconde section décrit le matériel et les méthodes utilisées lors du travail expérimental.

Enfin, la dernière section de ce mémoire expose les résultats obtenus et la discussion elle comporte trois aspects.

Aspect biochimique.

Aspect hématologique.

Etude bibliographique

Produced with Scantopdf

Chapitre I

Produced by Scantopdf

Les métaux et leur toxicité :

I-Introduction

De nos jours le langage courant a vulgarisé le terme « **métaux lourds** », englobant à tort un nombre de métaux : mercure, plomb, cadmium, nickel, arsenic, aluminium, bismuth, titane, cuivre, thallium, étain, etc.

Le terme métaux lourds, a été introduit historiquement au début du xxème siècle et ne comporté à l'époque que le mercure, le plomb et le cadmium. Depuis, leurs toxicité a été abondamment démontrée ainsi que de nombreux autres métaux appelés « métaux traces » comme par exemple l'étain, le titane et l'aluminium ou le nickel qui peuvent également avoir des effets dévastateurs sur l'organisme quand ils y sont accumulés. Les métaux lourds, de part leurs charge positive, réagissent fortement avec les charges négatives des fonctions latérales de certains acides aminés des protéines particulièrement la cystéine. Si certains autres métaux sont indispensable au fonctionnement enzymatique du corps, leurs surcharge déclenche des réactions toxiques les apparentent au monde d'action des métaux lourds, d'où leurs classification « infidèle ».

Le mélange des métaux lourds accentue encore leurs toxicités dans l'organisme, les pathologies engendrées par les métaux lourds sont souvent dégénératives (diminution des facultés cognitives, Alzheimer, Parkinson, sclérose en plaque, épilepsie, etc.).

Les métaux lourds perturbent l'activité enzymatique : ils sont en effet chimiquement très réactifs. Par exemple le mercure, le plus réactifs d'entre eux, prends la place des oligo-éléments essentiel aux enzymes de cellule. Cette situation a pour effet d'inactiver ou d'inhiber de nombreuses enzymes. Le zinc le sélénium, le calcium, le magnésium, le fer comme les autres oligo-éléments, ne sont pas toxiques, sauf à des concentrations élevées (surtout le fer) quand ils ne sont plus utilisés correctement par les cellules. Ils jouent un rôle de catalyseurs dans beau coup de fonctions enzymatiques [1].

Les organes cibles des métaux lourds sont variés : les ions métalliques se fixent sur les globules rouges (Pb, Cd, CH₃Hg). Les métaux s'accumulent dans le foie et les reins (organes très vascularisés), les dents et les os accumulent le plomb. D'autre part, les métaux solubles dans les lipides comme le plomb tétraéthyle peuvent pénétrer dans le système nerveux centrale. Par diffusion passive et grâce a leurs solubilité dans les lipides, le cadmium, le nickel, le plomb, le méthyl-mercure, traversent le placenta et peuvent s'y concentrer. Les

métaux lourds sont aussi issus de combustions car on les trouve, à l'état de trace, dans le charbon de fioul. Ils se trouvent dans les cendres et dans les cheminées.

I-1 Les métaux dans l'environnement :

Les conséquences résultant d'une intoxication par les différents métaux présents dans l'environnement ont largement été étudiées. Il est important de différencier les métaux qui sont essentiels pour l'organisme de ceux qui ne le sont pas. Les métaux essentiels pour l'organisme comme le **cuivre**, le **fer** et le **zinc**, peuvent devenir toxiques pour les cellules lorsque les concentrations dépassent le niveau naturel. Les métaux non essentiels peuvent cependant être absorbés par l'organisme de par leur présence dans l'environnement ; c'est le cas du mercure, du **cadmium**, du **nickel**, du **plomb** ou encore de l'**arsenic**.

I-2 Généralités :

L'utilisation du nickel est très ancienne, et l'on peut le remonter jusqu'à 3500 av. J.-C. Des bronzes trouvés en Syrie possèdent une teneur en nickel jusqu'à 2%. De plus d'anciens manuscrits chinois suggèrent que « le cuivre blanc » était utilisé en Chine entre le XVIII^e siècle av. J.-C. et le XV^e siècle av. J.-C.. Toutefois vu que le minerai de nickel était souvent confondu avec celui d'argent, sa connaissance et ses usages ne seront développés que bien plus tard. Le nickel (nombre atomique, 28; poids atomique, 58,7; point d'ébullition, 2,732 C; densité, 8,9 à 25 C), est un mélange de 5 isotopes stables de sources normales. 9 isotopes instables du nickel ont été également identifiés.

Le nickel existe sous 5 formes principales :

- nickel élémentaire et ses alliages
- composés inorganiques et hydrosolubles : (sulfates et les chlorures de nickel).
- composés inorganiques et insolubles dans l'eau : oxydes de nickel.
- composés organiques et insolubles dans l'eau
- nickel carbonyle Ni (CO)₄. [2]

Tableau I-1 : Identification et caractérisation des différentes formes physiques et chimiques du nickel.[2]

substance chimique	N CAS	N° EINECS	synonymes	Formes physiques (°)
Nickel <i>Ni</i>	7440-02-0	231-111-0		Solide cristallisé
Nickel tétracarbonyle	13463-39-3	236-669-2	Nickel carbonyle	liquide
Acétate de nickel	373-02-4	206-761-7	Di acétate de nickel Nickel (+2) acétate Nickel (II) acétate Nickelous acétate Acetic acid, nickel (+2) Salt Nickel diacétae	Solide cristallisé
Chlorure de nickel (<i>NiCl₂</i>)	7718-54-9	231-743-0	Dichlorure de nickel Nickel chloride Nickel(II)chloride Nickel dichloride	Solide cristallisé
Nitrate de nickel <i>Ni(NO₃)₂</i>	13138-45-9	236-068-5	Dinitrate de nickel Nickel nitrate Nickel (II) nitrate Nickel (+2) nitrate Nitric acid, nickel (II) salt Nitric acid, nickel (+2) salt	Solide cristallisé

<i>Oxyde de nickel</i> <i>NiO</i>	1313-99-1	215-215-7	Monoxyde de nickel Nickel oxyde Nickel (II) oxyde Nickel protoxide	poudre
<i>Sulfate de nickel</i> <i>NiSO₄</i>	7786-81-4	232-104-9	Nickel sulfate	Solide cristallisé
<i>Sous-sulfure de nickel</i> <i>Ni₃S₂</i>	12035-72-2	234-829-6	Disulfure de nickel Nickel sulfure Trinickel sulfide Nickel subsulfide.	Solide cristallisé

Tableau I-2 : Concentration ubiquitaire en nickel.[2]

<i>Concentration ubiquitaire</i>	<i>MILIEU</i>	<i>CONCENTRAION</i>
Air		<3ng /m ³ (1) (2)
EAUX		
-eau douce de surface		<10ug/L (1) (3)
-eau de mer		< 0,5ug/L (2)
- eau de pluie		< 1 ug/L (2)
Sols		20mg/Kg (4)
Sédiments		<20mg/Kg (2)

I-3 Bioaccumulation et métabolisme :

I-3-1 Etude chez l'homme

Le nickel et ses dérivées sont absorbés par voie respiratoire et dans une moindre mesure par le tube digestif .environs 20 à 35% du nickel inhalé (sous forme de composés peu solubles) sont absorbés dans le sang à partir des voies respiratoires [3].

Les composés les plus solubles du nickel (chlorures.sulfate) sont plus facilement absorbés par le tractus respiratoire .Par voie orale, 40 fois plus de nickel sont absorbées par le tractus gastro-intestinal, lorsque le sulfate de nickel est administré dans l'eau de boisson ($27\pm 1,7\%$) par rapport à son administration par la nourriture ($0,7\pm 0,4\%$) [4].

La biodisponibilité du nickel est diminuée lorsqu'il est administré dans du lait entier, du café, du thé ou du jus d'orange lors de la présence de nourriture [5] ou quand de l'acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA) est ajouté dans la nourriture [6].

La biodisponibilité est augmentée quand'il est administré dans les boissons gazeuses [3]. L'absorption du nickel existe également par voie cutanée. Cette voie est peu significative quantitativement mais importante cliniquement dans la pathogénie de la dermatite de contact [7]. Il n'existe pas de différences d'absorption du nickel par voie cutanée entre les sujets hypersensibles et les autres [8].

Le métabolisme extracellulaire du nickel consiste en une réaction d'échange de ligands [9]. Dans le sérum le nickel est lié à l'albumine, La L'histidine, et la alpha 2 macroglobuline. Chez les humains, les rats et les humains la fixation du nickel à l'albumine sérique se réalise au niveau d'un résidu histidine. Les chiens ne possèdent pas ce site de fixation et la majorité du nickel dans le sérum (plus de 85%) n'est pas liés au protéines [3].

L'élimination du nickel absorbé se réalise majoritairement par les urines. Le nickel ingéré (non absorbé) est excrété par les fèces [3].

I-3-2. Chez l'animal :

L'absorption du nickel est directement liée avec la solubilité des composés, les plus solubles étant les mieux absorbés. Chez des rats exposés par gavage à une dose unique de différent composés de nickel (10 mg de nickel) dans une solution d'amidon, le pourcentage de la dose absorbée varie de 0,01% pour le monoxyde de nickel, 0,09% pour le nickel métallique, 0,47% pour le sulfure de nickel, 11,12% pour le sulfate, 9,8% pour le chlorure et 33,8% pour le nitrate [3]. L'absorption existe également par voie cutanée.

Après exposition par voie orale, la distribution du nickel s'effectue principalement dans les reins, mais il est également retrouvé au niveau du foie, du cœur, des poumons, du tissu adipeux, du système nerveux périphérique et du cerveau. Une étude de Dostal et al. (1989) [11] chez le rat suggère que le nickel peut s'accumuler au niveau du lait maternel.

Après administration intrachéale, la voie d'élimination du nickel chez les rats dépend de la solubilité des composés. Pour les composés les plus solubles (chlorures, sulfates), environ 70% de la dose administrée est excrétée dans l'urine dans trois jours. Pour les composés les moins solubles (oxydes, sulfures de nickel), une grande partie du nickel est excrétée dans les fèces [3]. Après administration par voie orale du chlorure de nickel à des rats, de 94 à 97% est excrétée dans les fèces et de 3 à 6% dans les urines [4].

I-4 Toxicologie aiguë :

I-4-1 Etude chez l'homme :

Le composé du nickel ayant la toxicité aiguë est le tétracarbonyle [7]. Un résumé de 179 cas d'intoxications survenues par inhalation survenue en Chine depuis 1961 a été publié par Shi (1986) [12]. Les concentrations dans l'air étaient supérieures à 50 mg de tétracarbonylnickel /m³, avec des périodes d'exposition variant de 30 minutes à plus de 2 heures. Le temps de récupération varie de 7 à 40 jours selon la sévérité des symptômes.

Dans les cas mortels, le décès est survenu dans le troisième et le trentième jours suivant l'exposition. La toxicité aiguë se décompose en deux phases : immédiate et retardée. La symptomatologie immédiate se manifeste par des maux de tête, des vertiges, des nausées,

des vomissements, de l'insomnie et de l'irritabilité. Elle est suivie d'une période asymptomatique avant le début de la phase retardée. Celle-ci est essentiellement pulmonaire avec des douleurs constructives dans la poitrine, une toux sèche, une dyspnée, une cyanose, une tachycardie, des symptômes gastro-intestinaux occasionnels, une sudation, des perturbations visuelles et une débilité. La symptomatologie ressemble à une pneumonie virale.

Des effets toxiques ont été observés chez 35 travailleurs d'installation de galvanisation ayant bu accidentellement de l'eau contaminée par du sulfate de chlorure de nickel, et de l'acide borique [7]. L'exposition a été estimée entre 7,1 et 35,7 mg de nickel par Kg. Les symptômes incluent des nausées, vomissements, diarrhées, crampes abdominales, maux de tête, sensation d'ébriété et une augmentation transitoire des érythrocytes, de la bilirubine sérique et de la bilirubine urinaire. La contribution de l'acide borique à ces effets n'est pas connue.

La dermatite de contact, qui résulte d'une exposition cutanée au nickel, est l'effet le plus fréquent du nickel dans la population générale. Différentes études ont indiquées que l'administration d'une dose unique par voie orale de sulfate de nickel peut entraîner une exacerbation des symptômes de dermatite chez des sujets sensibilisés. La plus faible dose entraînant une dermatite a été estimée de 0,009 mg de nickel/Kg [3]. Cependant ces études sont limitées par un certain nombre de facteurs comme le petit nombre de sujets inclus, l'absence de contrôle de la nourriture, l'absence de méthodologie double_aveugle pouvant introduire des biais au niveau des investigateurs.

Des tests épi cutanés au sulfate de nickel réalisés chez des individus sensibilisés au nickel ont montrés une relation entre la sévérité de la réponse et la quantité du nickel [12,7]. Dans une étude chez 12 individus, une concentration de nickel de 0,01 % (100ppm) dans la vaseline n'a induit aucun effet, tandis qu'une concentration de 0,0316 % a été déterminée (316ppm) à entraîner une dermatite [13].

Un NOAEL de 0,0613 % a été déterminé pour le nickel en solution aqueuse. La majorité des tests épicutanés sont réalisés avec du sulfate de nickel en raison de son plus faible pouvoir irritant que le chlorure de nickel.

I-4-2 Etude chez l'animal :

Chez 28 rats soumis par inhalation à une exposition unique de 36,5 mg de nickel /m³ (sous forme de sulfate) pendant 2 heures, 4 morts ont été observés dans les deux jours suivant l'exposition]. Des hémorragies sévères des poumons ont été observés chez les rats décédés.

Une augmentation de la susceptibilité à l'infection au streptocoques a été observée chez des souris exposées à 0,46 mg de nickel (sous forme de sulfate ou de chlorure) pendant 2 heures .Après un test de provocation avec des streptocoques, le taux de mortalité était environs 20% supérieur chez les souris exposées au nickel par rapport aux témoins.

Les données de toxicité aiguë du nickel par voie orale indiquent que les composés solubles (acétate, sulfate) sont plus toxiques que les composés moins solubles (mono oxyde et sous sulfate de nickel).[13]

Les différentes valeurs de CL₅₀ et DL₅₀ des composés du nickel sont résumées dans le tableau ci- dessous.

Tableau I-3 : Valeurs de CL₅₀ et DL₅₀ des composés de nickel[13]

	COMPOSES	CL ₅₀ (mg/L) ou DL ₅₀ (mg/Kg)	ESPECES	REFERENCES
Inhalation	tétracarbonylnickel	0,100	Rats, 20minutes	OMS IPCS, 1991
		0,240	Rats, 30minutes	OMS IPCS, 1991
		0,067	Souris, 30minutes	OMS IPCS, 1991
Voie orale	Sulfate de nickel	39	Rats Sprague-Dawley (F)	Mastromatteo, 1986
	Acétate de nickel	116	Rats Fischer 344(F)	Haro et al., 1968
		136	Souris Swiswebster (M)	Haro et al., 1968

	Monoxyde de nickel	3930	Rats Sprague-dawley	Mastermatteo, 1986
	Sous sulfure de nickel	3665	Rats Sprague_Dawley	Mastermatteo, 1968

I-5 Toxicologie chronique :

I-5-1 Etude chez l'homme :

Les études chez l'homme (et l'animal) indiquent que le système respiratoire est la cible principale de la toxicité du nickel par inhalation. Une augmentation de l'incidence des décès par pathologie respiratoire a été trouvée chez des travailleurs exposés chroniquement à des concentrations supérieures à 0,04 mg de nickel /m³ sous forme de monoxyde ou de métal.

Les effets respiratoires étaient de type bronchite chronique, emphysème, diminution de la capacité vitale. Cependant, la toxicité observée ne peut être uniquement au nickel puisque les travailleurs étaient exposés à d'autres métaux comme : l'arsenic, l'uranium, le fer, le plomb et le chrome. D'autres études ne mettent pas en évidence d'augmentation de l'incidence des décès par pathologie respiratoire. Chez 28 travailleurs exposés au nickel (composé non précisé), une augmentation significative des IgG, des IgA et des IgM et une diminution significative des IgE a été observée. Par ailleurs, une augmentation significative d'autres protéines sérique pouvant être impliquées dans l'immunité à médiation cellulaire (alpha1-antitrypsine, alpha2- macroglobuline, céruloplasmine) a été observée. Ces modifications suggèrent que le système immunitaire a été stimulé par l'exposition au nickel. [14]

I-5-2 Chez l'animal :

Des rats et des souris ont été exposés par inhalation à du sous sulfure de nickel par inhalation 6 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 90 jours à des concentrations de 0,1 à 1, 8 mg de nickel/m³. Une hyperplasie des macrophages alvéolaires a été notée chez les rats à toutes les concentrations et chez les souris à partir de 0,2 mg/m³. Pour les plus fortes concentrations, une inflammation chronique active et une fibrose interstitielle focale chez certaines souris a été observée. [13]

L'exposition chronique (6heures/jour, 5jours/semaine pendant 78 semaines) à des poussières de sous sulfure de nickel ($0,97\text{mg}/\text{m}^3$ de nickel, soit une concentration d'environ $0,7\text{mg}/\text{m}^3$) a entraîné une augmentation des lésions pulmonaires chez des rats Fisher 344 [13]. Les lésions étaient de type pneumonie, atélectasie, bronchite, bronchectasie, emphysème. De plus, une diminution du poids corporel de 20 à 30% a été observée.

L'exposition chronique pendant deux ans de rats et de souris à du monoxyde de nickel ($0-0,5-1-2\text{mg}/\text{m}^3$ pour les rats, $0-1-2-3,9\text{mg}/\text{m}^3$ pour les souris), du sous sulfure de nickel ($0-0,11-0,73\text{mg}/\text{m}^3$ pour les rats, $0-0,44-0,88\text{mg}/\text{m}^3$ pour les souris), et du sulfate de nickel ($0-0,03-0,06-0,11\text{mg}/\text{m}^3$ pour les rats, $0-0,06-0,11-0,22\text{mg}/\text{m}^3$ pour les souris) a entraîné des lésions respiratoires [14]. Les lésions incluaient une augmentation du poids des poumons, une inflammation et/ou une fibrose des poumons.

Une atrophie de l'épithélium olfactif a été observée avec le sulfate de nickel.

Une hyperplasie de la médullosurrénale a été observée chez des femelles exposées à $2\text{mg}/\text{m}^3$ de monoxyde de nickel et à $0,73\text{mg}/\text{m}^3$ de sous sulfure de nickel.

Une diminution du poids corporel a été observée chez les souris femelles exposées à $0,22\text{mg}/\text{m}^3$ de sulfate (12% par rapport aux témoins) et à $0,88\text{mg}/\text{m}^3$ de sous sulfure de nickel (14% par rapport aux témoins).

Une hyperplasie des ganglions lymphatiques bronchiques a été observée avec le monoxyde de nickel ($0,5\text{mg}/\text{m}^3$ pour les rats, $1\text{mg}/\text{m}^3$ pour les souris), le sous sulfure de nickel ($0,11\text{mg}/\text{m}^3$ pour les rats, $0,44\text{mg}/\text{m}^3$ pour les souris) et le sous sulfate ($0,11\text{mg}/\text{m}^3$ pour les rats, $0,22\text{mg}/\text{m}^3$ pour les souris).

I-6 Toxicologie subchronique :

Un certain nombre d'études chez l'homme et chez l'animal suggèrent que l'exposition aux sels solubles de nickel entraîne l'apparition d'effets systémiques sur les reins, la mortalité néonatale et des effets sur le système immunitaire. Le rein constitue le principal organe cible tant chez l'animal que chez l'homme [15].

I-7 Reprotoxicité et tératogénèse :

On note l'absence d'études chez l'homme quant aux effets du nickel par voie orale, sur la reproduction et sur le développement [7,3]. Différentes études menées sur des souris et/ou rats exposés par voie orale (gavage ou ingestion d'eau de boisson) à différentes formes de nickel mettent en exergue l'impact sur la descendance : létalité des nouveaux nés, tailles et poids corporels des nouveau nés réduits [15]. L'étude de Smith et al. (1993) [16], menée sur des rates pendant 11 semaines avant l'accouplement puis pendant 2 périodes successives de gestation et d'allaitement, montre une augmentation de la mortalité fœtale.

I-8 Mutagénicité, génotoxicité, et cancérogénicité :

Plusieurs études expérimentales et épidémiologiques ont montré que le nickel (Ni^{2+}) est génotoxique. Les mécanismes de cette génotoxicité sont multiples (i) cassures mono brins et double brins de l'ADN pour des concentrations de 0.1-10 μM (soit environ 6-600 $\mu g/L$) avec activation de la Poly ADP-ribose polymérase qui est normalement induite en présence de lésions dans l'ADN cités par Lei et al., 2001 [17], la production d'espèces réactives de l'oxygène tel que le radical hydroxyle, inhibition (à des concentrations non cytotoxiques de Ni^{2+} des processus de réparation des lésions de l'ADN causées entre autres par les UV et le B(a)P⁹³. Cette inhibition peut être prévenue par des ions Mg^{2+} . En conséquence le Ni^{2+} entraîne une mutation transverse de type CC TT qui caractérise la mutagenèse du cuivre et des UV entre autres. La génotoxicité disparaît après élimination du nickel des matrices contaminées la génotoxicité qui lui est liée disparaît.

Les études de cancérogénicité des sels de nickel chez l'animal sont peu nombreuses. Toutefois, le nickel est reconnu comme ayant un potentiel cancérigène chez l'animal de laboratoire. Chez l'homme, les études épidémiologiques mettent en avant une augmentation du risque de cancer des voies aériennes supérieures et des poumons chez des sujets exposés professionnellement par voie respiratoire. C'est principalement l'inhalation de composés solubles qui est associée avec le risque le plus élevé de cancer des voies aériennes. D'autres types de cancer ont été associés avec une exposition au nickel, notamment dans des études en milieu professionnel mais aucune conclusion solide ne peut en être tirée. En 1990, le nickel et les composés du nickel ont été classés par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) dans le groupe 1 « cancérogène potentiel pour l'homme ». Les études

expérimentales disponibles pour juger de la cancérogénicité du nickel par voie orale sont peu nombreuses [18].

I-9 Manifestations allergiques :

Le nickel est un allergène, responsable de dermatites de contact. Globalement, l'incidence de l'allergie au nickel est de l'ordre de 8 à 14 % dans la population féminine, et de 1% dans la population masculine [18].

Chapitre II

Produced with ScantOPDF

II-Le stress oxydatif

I-Introduction :

Le métabolisme cellulaire normal de l'oxygène produit de manière continue de faibles quantités de dérivés réactifs de l'oxygène.

Le rôle physiologique de cette production basale de dérivés réactifs de l'oxygène n'est pas totalement connu, mais certaines de ces molécules pourraient avoir une fonction dans les processus de signalisation cellulaire.

Dans certaines situations, cette production augmente fortement, entraînant un stress oxydatif que l'on définit comme un déséquilibre entre la production et la destruction de ces molécules. En raison de leur capacité à endommager presque tous les types de molécules dans l'organisme [19].

II-1-Définition :

Le mot 'stress' signifie une agression biologique de nos cellules, et de nombreux composés de notre organisme comme les protéines, les lipides, les sucres et même l'ADN de nos noyaux cellulaires.

'Oxydatif' signifie qu'il s'agit d'une agression oxydative autrement dit, Cette 'oxydation' de notre corps est le prix que nous devons payer à utiliser pour notre métabolisme énergétique un comburant exceptionnel : l'oxygène...

Dans chacune de nos cellules l'oxygène que nous respirons libère de grandes quantités de molécules très réactives que l'on appelle 'dérivés actifs de l'oxygène (ROS Réactive Oxygen Species) et aux espèces réactives oxygénées et azotées (RONS , N pour nitrogen)les premiers 'radicaux libres' que notre organisme doit combattre. [19]

II-2-Les dérivés réactifs de l'oxygène :

II-2-1-Définition :

Un radicale libre se définit comme tout atome, groupe d'atomes ou molécules possédant un électron non apparié (célibataire) sur l'orbitale externe. Cette caractéristique lui confère une réactivité importante : les radicaux libres réagissent avec des molécules plus stables pour capter ou céder leurs électrons, créant ainsi de nouveaux radicaux en initiant des

réactions en cascade. Dans certaines conditions métaboliques la réduction de l'oxygène (O_2) est incomplète est abouti à la formation des radicaux libres.

Actuellement on emploie le terme de dérivées actives de l'oxygénée ou ROS pour désigner un ensemble plus large de molécule :

Des radicaux oxygénés caractérisés par un électron non apparié (l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$))

- les radicaux hydroxyle HO^{\bullet} , peroxyde ROO^{\bullet} , alkoxyde RO^{\bullet}

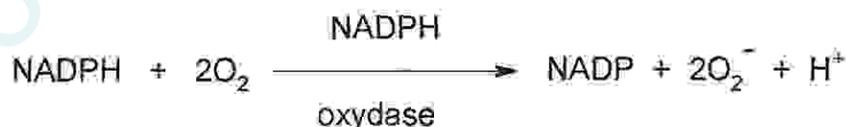
Des dérivés de l'oxygène non radicalaire comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

- l'oxygène singulet (1O_2) ou l'ozone (O_3) fortement oxydants et facilement convertis en radicaux.

Toutes ces espèces oxygénées sont formés en faible quantité dans les conditions physiologiques (au sein de la chaîne respiratoire mitochondriale, lors de réactions inflammatoires) mais elles sont éliminées rapidement par le système antioxydant cellulaires. lorsque leur production augmente et ou lorsque les défenses antioxydantes ne sont plus suffisantes face a cette production, les ROS peuvent attaquer différentes cibles cellulaires (lipides, protéines, glucide, ADN) causant des dommages multiples et pouvant entraîner la mort de la cellule. [20]

II-2-2-Formation des dérivés actifs de l'oxygène :

Les ROS peuvent être formés dans la cellule par des voies non enzymatiques ou enzymatiques, la principale source étant la réduction d'une molécule d' O_2 en radical anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$). Cette réaction semble surtout catalysée par des NADPH oxydases membranaires [21], qui sont généralement des chaînes de transport d'électrons constituées de flavoprotéines, cytochromes et quinones, la réaction globale est la suivante:



L' $O_2^{\bullet -}$ Peut également être formé dans certains organites cellulaires tels que les peroxysomes, via la conversion de l'hypoxanthine en xanthine, puis en acide urique, catalysée par la xanthine oxydase, et les mitochondries lors d'un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire [21]. Une fois formé, $O_2^{\bullet -}$ peut être neutralisé par un H^+ et transformé

en radical hydroperoxyde (HOO^\bullet) ou réagir avec le NO^\bullet (diminuant ainsi la disponibilité de NO^\bullet et donc la vasorelaxation endothélium-dépendante) pour former l'anion peroxyde (ONOO^-). Celui-ci peut nitrer des protéines au niveau des résidus tyrosines ou engendrer un radical nitrite NO_2^\bullet et le radical hydroxyle (HO^\bullet) (figure II-1)

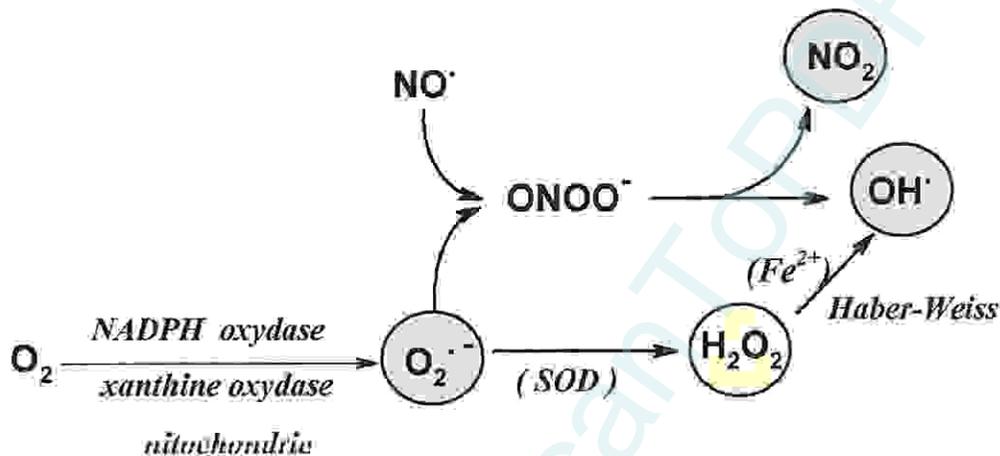


Figure II-1 :production du ROS dans la cellule.[20]

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est une espèce stable, mais diffusible et avec une durée de vie compatible avec une action à distance de son lieu de production. Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est formé secondairement par la dismutation de l'anion superoxyde :



Plus agressif : La dismutation spontanée ou catalysée par les superoxyde dismutases est la source majeure de H_2O_2 . De plus, H_2O_2 est aussi produit *in vivo* par différentes oxydases, incluant l'acide aminooxydase et la xanthine oxydase. H_2O_2 n'est pas un radical libre mais a la capacité de générer des radicaux hautement réactifs. Le H_2O_2 peut être réduit suivant la réaction d'Haber-Weiss engendrant alors un ion OH^- inoffensif et un radical hydroxyle HO^\bullet .



Cette réaction est lente et probablement inopérante dans les tissus vivants. En revanche, la réaction de Fenton qui nécessite l'intervention d'ions Fe^{2+} , se produit *in vivo* ; elle met en jeu la capacité du peroxyde d'hydrogène à oxyder des composés aromatiques en présence de fer :



Le radical hydroxyle a une demi-vie extrêmement courte et une capacité à diffuser restreinte.

Il peut réagir avec un certain nombre de molécules comme les lipides organiques en enlevant ou en ajoutant une molécule d'hydrogène sur les liaisons insaturées.

Parmi les ROS, les radicaux HO^\bullet sont de loin les plus réactifs mais leur demi-vie est très courte (10^{-9} s). Au contraire, les $O_2^{\bullet-}$ ont une demi-vie plus longue (qui dépend surtout de la présence de la SOD) et bien que beaucoup moins réactifs, ils peuvent être aussi destructeurs que les HO^\bullet [20]

II-2-3-Les cibles des dérivés actifs de l'oxygène :

L'équilibre entre les effets positifs et négatifs des radicaux libres est particulièrement fragile [20]. La production de ces radicaux peut être régulée par notre organisme [22]. Les systèmes de régulation se composent d'enzymes, de protéines, de molécules antioxydantes de petite taille et d'oligoéléments indispensables pour l'activité des enzymes.

Un déséquilibre de la balance antioxydant en faveur de la production des ERO constitue le stress oxydant.

a- les cibles lipidiques :

Les acides gras polyinsaturés sont les cibles privilégiées des ROS radicalaires en raison de leurs hydrogènes bis-allyliques facilement oxydables. Plus l'acide gras est insaturé et plus il est susceptible d'être peroxydé, c'est-à-dire dégradé par un processus oxydant non enzymatique. [20]

a-1- la peroxydation lipidique :

Il s'agit d'un enchaînement des réactions radicalaires organisées en trois phases successives : l'initiation la propagation et la terminaison.

➤ la phase d'initiation :

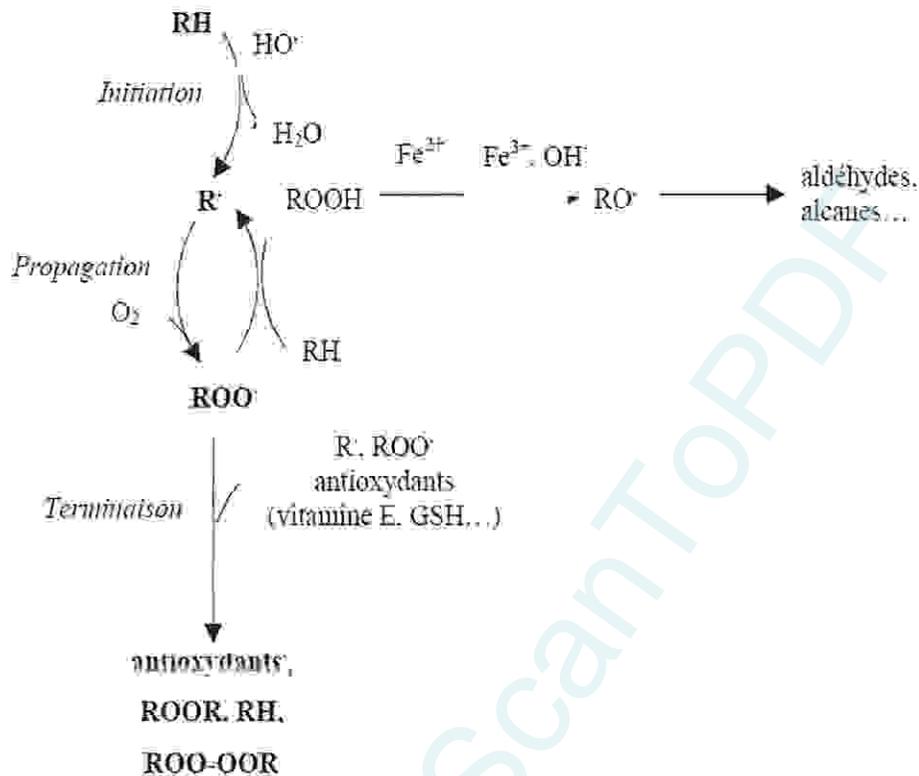
Elle consiste à la création d'un radical d'acide gras R^\bullet à partir d'un acide gras RH par soustraction d'un atome d'hydrogène (H) cette déshydrogénation peut être provoquée par un initiateur radicalaire tel que HO^\bullet ou HOO^\bullet le radical lipidique R^\bullet subit ensuite un réarrangement moléculaire pour donner un radical avec une structure de diène conjugué plus stable, qui peut réagir avec une molécule d' O_2 et former un radical peroxy (ROO^\bullet), ce radical est suffisamment réactif pour arracher à nouveau un autre hydrogène.

➤ la phase de propagation :

Un H à un acide gras polyinsaturé voisin propageant ainsi la réaction l'hydroperoxyde lipidique ($ROOH$) formé peut être oxydée en présence de Fe ou Cu et entraîner la formation d'alcane et d'aldéhydes

➤ La phase de terminaison :

La réaction en chaîne peut être heureusement interrompue (phase de terminaison) par l'association de deux radicaux libres et la formation d'un composé stable ou le plus souvent par la réaction du radical avec une molécule antioxydants :



FigureII-2 : Réactions de la peroxydation lipidique [20]

a-2 -les conséquences de la peroxydation lipidique :

La peroxydation lipidique spontanée s'avère toujours néfaste. Dans les conditions physiologiques normales elle reflète la toxicité de l'oxygène et a plusieurs conséquences :

- La présence d'un groupement peroxyde perturbe les interactions hydrophobes lipides/lipides et lipides /protéines ceci conduit à des altérations structurales des membranes et des lipoprotéines
- La fluidité des membranes est diminuée et la perméabilité est augmentée, des enzymes et des récepteurs membranaires sont susceptibles d'être inactivés.
- Les hydro peroxydes lipidiques sont à leur tour la source de radicaux libres qui peuvent induire des modifications secondaires des autres membranes et/ou des constituants des lipoprotéines Ceci met en péril l'intégrité des organites et/ou de la cellule et peut conduire à une lyse des organites comme de la cellule.

La peroxydation lipidique spontanée exerce par ailleurs une toxicité propre liée aux aldéhydes issus de la dégradation des formes lipoperoxydées instables. Les plus importants.

quantitativement sont les 4-hydroxyalkénals ; ce sont des agents alkylants très puissants qui peuvent former des composés d'addition avec les résidus cystéines des protéines et du glutathion des bases de schiff avec les groupements aminés des protéines, des PE et PS. Les aldéhydes comme le 4-hydroxy -2,3-nonéanal (**4-HNE**) ou le dialdéhyde malonique (**MDA**) peuvent former des adduits avec les protéines au niveau des résidus lysine, histidine ou cystéine, entraînant la formation de bases de Schiff et des pontages intra et inter moléculaires.

Une cyclooxygénation non enzymatique de l'acide arachidonique aboutit à la formation de produits particuliers : les isoprostanes, le dosage de ces isoprostanes ou du MDA permet généralement d'évaluer la peroxydation lipidique.[20]

b- Les cibles non lipidiques :

b-1-Oxydation des protéines :

Les protéines sont des constituants cellulaires structurels et fonctionnels, essentiels, qui peuvent subir des modifications oxydatives. L'oxydation des acides aminés, surtout des acides aminés soufrés et acides aminés aromatiques, entraînent des modifications structurales des protéines, facilitant de ce fait leur agrégation ou leur digestion par les protéases [23].

Ces modifications s'accumulent avec l'âge dans de nombreux tissus et altèrent la fonction des organes [24,25]. L'oxydation des acides aminés soufrés entraîne une perte des groupements thiols [24].

Ces altérations concernent particulièrement les enzymes antioxydantes qui contiennent très souvent des groupements thiols (SH). L'intégrité des membranes cellulaires est également menacée par l'oxydation des protéines du fait de la modification du caractère antigénique et des propriétés fonctionnelles des protéines membranaires (récepteurs ou enzymes). Ces protéines, en perdant leurs propriétés biologiques, deviennent non seulement beaucoup plus sensibles à l'action des protéases et très hydrophobes (figure II -3)

Les carbonyles sont utilisés comme un marqueur de l'oxydation des protéines et de façon générale comme un marqueur du stress oxydant. On doit à Hensley et à son groupe 38 d'avoir mis au point et développé des techniques permettant cette mesure [26]. La plus utilisée est celle qui met en œuvre la réaction entre les produits carbonylés et la 2,4-dinitrophénylhydrazine conduisant à la formation de

b-2- Oxydation des glucides :

L'oxydation du glucose peut s'effectuer dans des conditions physiologiques en présence des ions métalliques conduisant à la libération d'aldéhydes et du peroxyde d'hydrogène. Cette oxydation entraîne la glycation des protéines par attachement de l'aldéhyde conduisant souvent à la coupure de la chaîne protéique. La glycation des protéines favorise leur oxydabilité (réaction avec l'oxygène pour former des ERO). [27].

b-3- Les altérations de l'ADN :

Il existe au sein de la cellule deux types d'ADN : l'ADN nucléaire et l'ADN mitochondrial. Ce dernier est la cible privilégiée des oxydations par les ERO du fait de son potentiel de réparation plus faible que celui de l'ADN nucléaire et de sa proximité directe de l'une des principales sources des ERO Cellulaires : la chaîne respiratoire mitochondriale. Ainsi, le taux de bases oxydées serait 2 à 3 fois supérieur dans l'ADN mitochondriale par rapport à l'ADN nucléaire. Selon la source des agressions, l'ADN est endommagé de différentes façons. On peut noter quatre classes principales de dommages : les coupures simples et doubles brins, les bases modifiées comme la 8-OHdG qui est un marqueur des dommages oxydatifs de l'ADN, les pontages ADN-ADN et ADN-protéines et les sites abasiques. La figure ci-dessous illustre ces différents dommages [25] (figure II- 4).

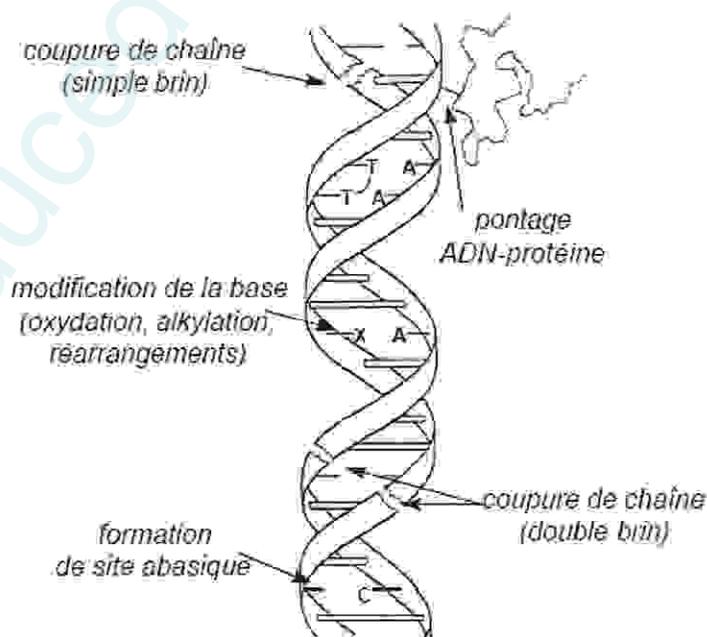


Figure II- 4 : Principales classes de dommages de l'ADN [25]

II-3-Implication du stress oxydant dans les pathologies :

Le stress oxydant représente un des facteurs potentialisant la genèse de maladies plurifactorielles telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète, les rhumatismes, l'asthme, le SIDA, le cancer et les maladies neurodégénératives.

II-3-1-Stress oxydant et maladie d'Alzheimer :

La maladie d'Alzheimer est une forme de démence sénile qui se manifeste dès la soixantaine et qui, à l'âge de 85 ans, touche une personne sur cinq. La neurodégénérescence est causée par les dépôts de plaques amyloïdes dues à l'accumulation d'un peptide amyloïde bêta (A β). Ce peptide provient d'une protéine transmembranaire dite APP (amyloïde protéin précurseur), naturellement présente dans tous les types cellulaires notamment les neurones.

ont suggéré un rôle du stress oxydant dans la maladie d'Alzheimer suite à l'observation de l'augmentation de la peroxydation lipidique, de l'oxydation des protéines, l'altération de l'ADN mitochondrial et l'augmentation de 50% de l'activité de la Cu/Zn SOD [28] dans le cerveau des patients atteints de maladie d'Alzheimer. Les ERO peuvent également oxyder l'APP entraînant son dépôt et son agrégation.

II-3-2-Stress oxydant et maladie de Parkinson :

La maladie de Parkinson décrite initialement en 1881, est une maladie neurodégénératives caractérisée par la présence de symptômes et de lésions neuropathologiques spécifiques. Certaines études ont suggéré une implication du stress oxydant dans la maladie de Parkinson. Cette maladie neurodégénératives a une forte incidence dans la population âgée. Elle se déclare autour de 60 ans et dure, en moyenne, 13 ans. Les dommages oxydatifs ont été observés après une analyse *post mortem* du cerveau des individus atteints de la maladie de Parkinson. Une diminution de la quantité du glutathion réduit (GSH) et de l'activité du complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale a également été rapportée [25]. Une diminution de GSH suggère l'induction d'un stress oxydant.

II-3-3- Stress oxydant et cancer :

De très nombreuses études démontrent la place prépondérante du stress oxydant dans l'initiation et le développement des cancers. L'existence d'un stress oxydant chez les malades peut être à la fois montrée par l'effondrement des défenses antioxydantes et par l'augmentation des produits issus du stress oxydant. Des dérivés d'oxydation de l'ADN signant un stress oxydant sont retrouvés dans le sang et les tissus des malades cancéreux. De nombreux aldéhydes sont retrouvés en quantité importante dans le sang des enfants cancéreux.

L'augmentation de la peroxydation lipidique est même observée au stade précancéreux chez des femmes atteintes de dysplasie mammaire ou cervicale.

L'activité de l'enzyme Mn-SOD est augmentée dans la muqueuse des malades atteints d'adénocarcinome de l'estomac, sans doute en réaction à la présence excessive des ERO [25].

Chapitre III

Produced with ScantOPDF

Les systèmes de protection :**III-1- Les antioxydants enzymatiques :**

Une part importante des défenses antioxydantes cellulaires est composée des enzymes suivantes : les super oxydes, la catalase et les glutathion peroxydases

a) Les superoxydes dismutases :

Les superoxydes dismutases ou SOD sont des enzymes ubiquitaires catalysant la dismutation des anions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et oxygène moléculaire suivant la réaction suivante :



Ces enzymes accélèrent la vitesse de cette réaction spontanée rendant très rapide la disparition du superoxyde mais en générant le peroxyde d'hydrogène. Celui-ci est un composé oxydant mais peut être ultérieurement catabolisé par la catalase et les glutathions peroxydases.

Trois formes ont été décrites chez les mammifères [29] : La SOD à cuivre/ zinc présente dans le cytoplasme, la SOD à manganèse présente dans les mitochondries et une SOD extracellulaire caractérisée au niveau de la lymphe et du plasma : c'est une SOD à cuivre/zinc catalyse la même réaction mais diffèrent par leur masse moléculaire, leur séquence en acides aminés et leur localisation. Les plaquettes des sujets sains contiennent environ 5U de SOD [30]. L'unité enzymatique correspond à la quantité d'enzyme inhibant 50% de la réaction de ferricytochrome c.

b) La catalase :

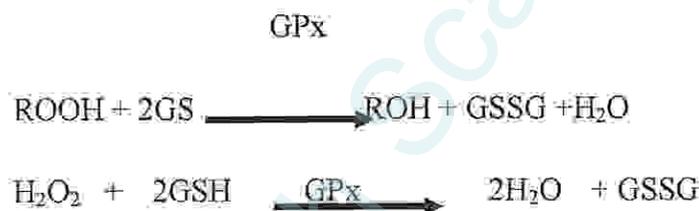
La catalase ou CAT est une protéine hémique qui catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire suivant la réaction suivante :



La catalase se trouve dans les hématies et dans les peroxysomes de nombreux tissus et cellules, cette compartimentation l'empêche d'être un accepteur de l' H_2O_2 formé dans le cytosol et les mitochondries. L'activité de la catalase plaquettaire est estimée à environs 2U [31]. L'unité étant définie comme la quantité d'enzyme qui décompose 1umole de peroxyde par une minute.

c- Les glutathion peroxydases :

Les glutathion peroxydases présentent dans la plus part des tissus des mammifères, catalysent la réduction par le glutathion du peroxyde d'hydrogène et de divers hydroperoxydes lipidiques produits. Les réactions mises en jeu sont les suivantes :



Plusieurs types de GPx ont été décrits :

- ❖ deux GPx intracellulaires, la GPx 1 ou cGPx pour l'enzyme cellulaire cytosolique et la GPx 4 ou PHGPx (« Phospholipide Hydroxyperoxyde Glutathion Peroxydase») spécifique des hydroperoxydes présent dans les phospholipides
- ❖ Une GPx plasmatique ou GPx 3
- ❖ Une forme tissulaire spécifique gastro-intestinal ou GPx 2

A l'activité spléno-dépendante, il faut ajouter les GSH -S transférases, protéines sans sélénium. Ces protéines possèdent une activité GPx vis-à-vis certains substrat mais différent des GPx par leurs séquences protéique [20]. Enfin Ghyselink et al. 1990 ont décrit la GPx 5 ou MEP 24 (« Mouse Epidymal Protein ») secrété dans l'épididyme de la souris ; elle a également été identifié chez l'homme [31].

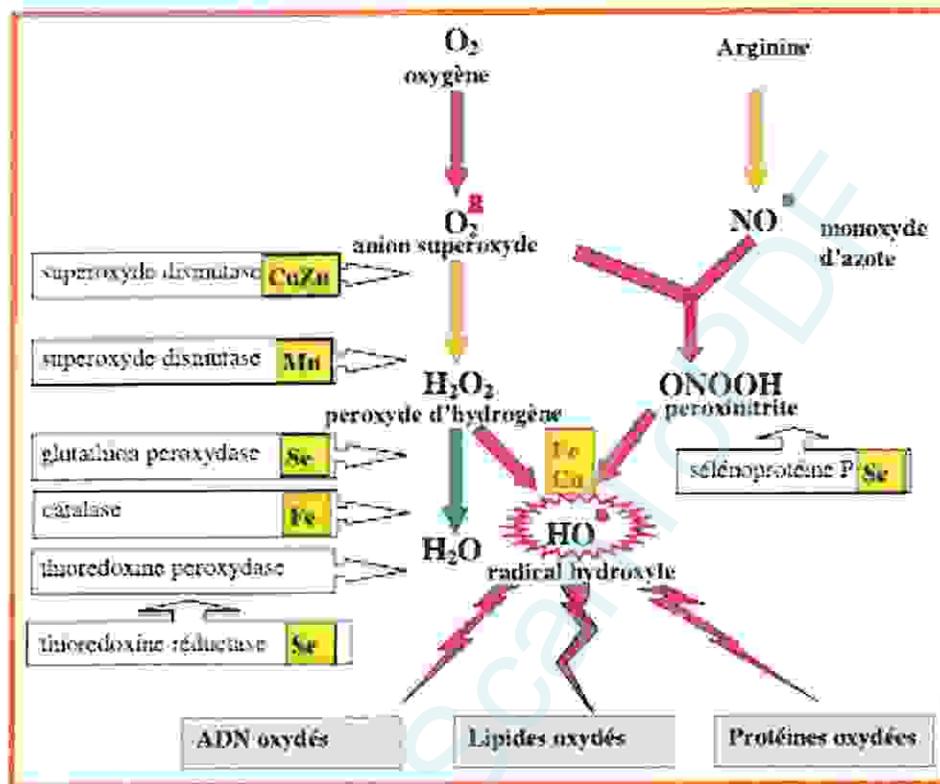


Figure III-1 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques

Antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques [25].

III-2) Les antioxydants non enzymatiques

Certaines substances ont la propriété de piéger et de détruire les espèces oxygénées réactives. Il s'agit de composés facilement oxydables présents dans le cytoplasme (glutathion et acide ascorbique) ou dans les membranes cellulaires tocophérol, caroténoïdes

a- Les antioxydants liposolubles :

Situés essentiellement au niveau des membranes cellulaires et des lipoprotéines plasmatiques circulantes, ces antioxydants sont capables grâce à leur structure chimique de

réagir directement avec les ROS et d'inhiber ainsi la peroxydation lipidique. Les principaux antioxydants appartiennent à la famille des tocophérols ou des caroténoïdes.

a-1- La vitamine E :

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédantes des activités biologiques identiques à celle de la famille des tocophérols. La forme naturelle de la vitamine E inclut quatre tocophérols isomères α , β , γ , δ , avec une activité antioxydante variable. L' α tocophérol (α -Toch) est la plus active de la classe des tocophérols. Sa structure moléculaire comporte une extrémité hydrophobe et une extrémité hydrophile. Il est admis que les radicaux tocophéryles sont régénérés par l'acide ascorbique et que, sans cette synergie, les tocophérols sont inactifs. Lors l'initiation de la peroxydation lipidique et suite à une l'attaque radicalaire, l' α Toch, connu comme inhibiteur de la propagation, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical RO_2 , et constitue par ce biais le seul antioxydant liposoluble assurant cette protection[20].

b) Les antioxydants hydrosolubles :

Se sont des petites molécules qui peuvent piéger directement les molécules radicalaires ou limiter leur formation la vitamine C et le GSH sont les principaux antioxydants hydrosolubles du compartiment intracellulaire.

b-1) La vitamine C

(Acide ascorbique), apportée par l'alimentation chez l'homme, est présente dans la cellule au niveau du cytoplasme et dans les lysosomes. Elle peut directement agir avec des espèces réactives de l'oxygène OH^\cdot et O_2^\cdot et former le radical semi éshydroascorbate peu réactif, qui rapidement oxydé en acide déshydroascorbique.

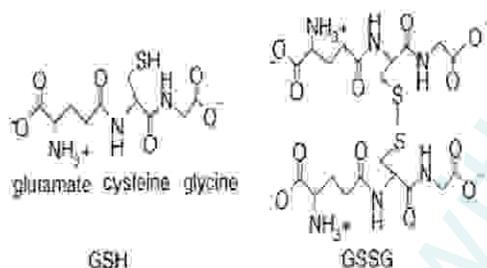
La vitamine C inhibe la propagation de la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E, cependant en présence du fer en quantité plus importante, elle peut devenir

Pro oxydante.[25]

Les groupements thiols (au sein des résidus cystéines ou des petits peptides) dans leur forme réduite peuvent également piéger les radicaux libres.

b-2) Le glutathion :

Le glutathion, première ligne de défense anti radicalaire, existe en équilibre entre deux formes, l'une réduite (GSH) en abondance dans le milieu intracellulaire, et l'autre oxydée (GSSG) (figures III-2 et III-3). Le GSH ou γ -glutamyl-cystéinyl-glycine est le plus abondant thiol libre non protéique dans les cellules de mammifères. Sa concentration est comprise entre 0,5 et 10 mM, alors qu'elle oscille entre 0,5 et 10 μ M dans le plasma. La synthèse intracellulaire de cette molécule implique deux réactions enzymatiques ATP dépendantes. C'est la γ - glutamyl-cystéine synthétase (glutamate-cystéine ligase) qui régule la biosynthèse. Le GSH ainsi formé va avoir un effet inhibiteur sur cette enzyme. [25]



- **Glutamate-cystéine ligase**
L-glutamate + L-cystéine + ATP γ -L-glutamyl-L-cystéine + ADP + Pi
- **Glutathion synthétase**
 γ -L-glutamyl-L-cystéine + glycine + ATP Glutathion + ADP + Pi

Figure III-2: Structures du glutathion réduit (GSH)

Et du glutathion oxydé(GSSG)[25]

Figure III-3: Synthèse enzymatique du

glutathion d'après (Dickinson and Forman 2002)[25]

b-2-1). Fonctions antioxydantes du glutathion :

Le glutathion (GSH) est impliqué dans de nombreux processus métaboliques, parmi lesquels le maintien des communications intercellulaires et la prévention de l'oxydation des groupements thiols grâce à son pouvoir réducteur. Il piège les espèces réactives de l'oxygène car il réagit notamment avec le radical hydroxyle. Il est intéressant de noter que le GSH peut chélater les ions Cu^+ et ainsi limiter leur participation à la génération de radicaux libres par la réaction de Fenton. Dans certaines conditions physiologiques, le GSH protège l'ADN contre $^1\text{O}_2$.

Le rapport de GSH/GSSG est un indicateur dynamique du stress oxydant et l'homéostasie redox, qui est régulée par des molécules riches en thiols, les métaux et les autres antioxydants,

contrôle de nombreuses fonctions biologiques telles que l'activation enzymatique, la synthèse de l'ADN, le contrôle du cycle cellulaire, l'activation transcriptionnelle. Du fait de son abondance, le GSH est le thiol le plus important dans le contrôle du statut redox. Dans les cellules non stressées, 99% du glutathion est présent sous sa forme réduite (GSH) ; sous cette forme, le GSH peut être redistribué dans le noyau. Dans les cellules, l'expression génique est influencée par la balance entre pro- et antioxydants. Ainsi, le statut redox contrôle l'activation transcriptionnelle, la translocation nucléaire et la fixation à l'ADN de facteurs de transcription tels que NF- κ B, AP-1 et p53 [25]

III-3-les oligo-éléments :

Les sels minéraux et oligo-éléments jouent également un rôle dans le vieillissement. Par exemple, il faut veiller à absorber sodium et potassium, qui régularisent l'équilibre acido-basique, calcium, zinc, sélénium déjà fort bien connue et responsable de la destructions de radicaux libres, chrome ou cuivre mais il faut aussi du rubidium ou du lithium pour un vieillissement en bonne santé. Le zinc intervient comme cofacteur dans de très nombreuses réactions enzymatiques, au moins 300. Il possède une action immunomodulatrice et a de forts effets anti-radicalaires. En vieillissant, le métabolisme du zinc est perturbé et cela se traduit par une diminution du goût, un ralentissement de la cicatrisation et aussi le développement de certaines maladies pathologiques. [20]

III-4- Le zinc :

III-4-1- Identification de zinc :

Le zinc est un élément chimique, de symbole Zn et de numéro atomique 30. Il est par certains aspects semblable au magnésium dans la mesure où son état d'oxydation courant est +2, donnant un cation de taille comparable à celle de Mg^{2+} . C'est le 24^e élément le plus abondant dans l'écorce terrestre. Il possède cinq isotopes stables.

Son principal minerai est la sphalérite, un sulfure de zinc. Les réserves mondiales estimées de zinc étaient de 250 millions de tonnes en 2010⁸, détenues notamment par l'Australie (21,2 %) et la Chine (16,8 %). La production mondiale s'est élevée en 2010 à 12 millions de tonnes, assurée essentiellement par la Chine (29,2 %), le Pérou (12,7 %) et l'Australie (12,1 %).[32]

III-4-2-Toxicocinétique-métabolique :

Le zinc est un oligoélément essentiel au métabolisme de nombreux enzymes. Son absorption dépend de la spéciation (ou espèce chimique), de la solubilité du composé dans le milieu biologique considéré, ainsi que sa granulométrie.

En milieu professionnel, le zinc est absorbé par voie pulmonaire sous forme de fumées ou de poussières (oxyde de zinc) et potentiellement par voies digestive et cutanée (en cas de peau lésée) pour les formes solubles.

L'apport de zinc par l'alimentation est important : pour mémoire, l'apport nutritionnel recommandé est de l'ordre de 15 mg/j. chez l'adulte. 20 à 40 % du zinc présent sont absorbés au niveau de l'intestin grêle, par l'intermédiaire d'une métallothionine. Le zinc est présent dans tous les tissus et les liquides de l'organisme : 63 % dans les muscles et 28 % dans les os.

Dans le plasma, les 2/3 de cet élément sont liés à l'albumine. L'élimination est surtout fécale (70-80 %) et pour une moindre part (15-25 %) urinaire et dans la sueur.

Après administration parentérale, la demi-vie d'élimination est de 200 à 500 jours. Les concentrations urinaires de zinc subissent des variations diurnes et sont augmentées dans certaines pathologies (cirrhose, syndrome néphrotique). [33]

III-4-3- Zinc et physiopathologie :

a-Propriétés antioxydantes du zinc :

Le rôle antioxydant du Zn s'exerce indirectement en assurant la stabilisation de la Cu-Zn SOD [34]. Le rôle du zinc semble toutefois bien moins important que celui de l'autre cofacteur, le cuivre. Au-delà de cette fonction, le zinc possède d'autres propriétés antioxydantes pour lesquelles le mécanisme précis reste encore incomplètement connu.

[35]

Le Zinc assure les fonctions suivant :

- Inhibition de la production des espèces radicalaires de l'oxygène (ERO) par les métaux de transition, en entrant en compétition avec eux dans la réaction de Fenton. Il entrerait en compétition avec le fer et le cuivre, en diminuant, d'une part, leur absorption intestinale et, d'autre part, la chélation de ces derniers par la cystéine. Or, le fer lié à celle-ci peut transférer des électrons à l'oxygène, et permettre la production d'anion superoxyde.
- Protection des groupements thiols (SH) des protéines contre l'oxydation induite par le fer ou par les ERO, en empêchant la formation de ponts disulfures intramoléculaires.
- Inhibition de la peroxydation lipidique provoquée par un mélange FeSO₄/acide ascorbique, au niveau de liposomes et de micelles lipidiques.
- Le zinc joue un rôle stabilisateur des niveaux membranaire en empêchant l'oxydation.
- Le zinc est un inhibiteur de l'enzyme NADPH oxydase qui catalyse la production d'O₂• à partir d'O₂.
- Le zinc induit la production de métallothionéines, riches en cystéine, qui peuvent piéger les radicaux hydroxyles. Ceci entraîne la formation de ponts disulfures et, ainsi, le relargage de zinc qui pourrait alors être capté par les membranes.
- Le zinc permet d'inhiber le facteur de transcription NF- κ B activé par des stimuli tels que les cytokines pro-inflammatoires (IL-1, TNF- α), les radiations, le stress oxydant.

[36]

b- Carence en zinc et stress oxydant :

Bien que le mécanisme, par lequel le Zn agit comme un antioxydant, reste imprécis, un statut altéré en cet élément-trace a clairement un impact sur les capacités antioxydantes de la cellule et, par conséquent, de l'organisme tout entier. De nombreuses équipes ont montré une augmentation de stress oxydant lors d'une concentration en zinc abaissée (Erreur ! Source du renvoi introuvable.). La culture de cellules, en présence d'un milieu appauvri en Zn, entraîne une production accrue de molécules oxydantes. *In vivo*, l'augmentation des protéines oxydées et des dommages causés à l'ADN a été démontré chez des rats carencés en Zn . De plus, les animaux carencés cet oligoélément sont plus sensibles à un accroissement de la production de radicaux libres et à une aggravation de leurs lésions que les animaux normo nutris [37]

Le tableau suivant est une liste non exhaustive des études réalisées sur les nombreux effets D'une carence en Zn sur le statut oxydant :

Tableau III-1:Etudes expérimentales sur les effets d'une carence en zinc sur les paramètres du statut oxydant.[36]

Support	Résultats	Références
Erythrocytes de rats carencés	Diminution de CAT, GPx, GRase, GST, SOD, potentiel antioxydant et de la concentration sérique en Zn. Augmentation de NO et du MDA.	(Taysi, 2008)
Foie de rats carencés (3,3 mg/kg)	Fe, Cu, GPx et GSH hépatique non affectés. SOD Cu/Zn, CAT diminués. MDA augmenté. Expression abaissée de l'ARNm de CAT.	(Jing, 2007)
Foie et plasma de rats carencés (<0,05 mg/kg)	Foie : Diminution de la concentration en Zn et de α -tocophérol (respectivement 19, 38 et 27%). Taux du cytochrome P450 élevé. Plasma : Augmentation de F2-isoprostanes. Diminution de l'acide urique (50%). Pas de changement de vit C et de α et β -tocophérol.	(Bruno, 2007)
Muscle de rats carencés (5 mg/kg)	Expression abaissée de 4 protéines (S-glutathiolated carbonic anhydrase, myosin light polypeptide 3, heat shock protein 20, fatty acid binding protein)	(Grider, 2007)

D - Apports nutritionnels :

Les besoins journaliers en zinc avoisinent les 8 mg chez l'homme et la femme.

Mais pour les personnes végétariennes, ces besoins sont plus importants car le zinc est moins bien absorbé quand il provient de végétaux que dans les aliments d'origines animales. Il en faudra donc 13 mg/j pour une femme végétarienne, 18 mg/j pour un homme.

Mais les jeunes femmes semblent avoir des apports moins élevés. En outre, la consommation d'alcool, une maladie du foie ou des reins, ou une malabsorption intestinale peuvent empêcher la bonne assimilation du zinc et demandent donc une consommation encore plus importante. [36]

On trouve le zinc principalement dans les fruits de mer et les aliments à base de blé complet. Mais les noix, le jaune d'œuf ou la viande, plus faciles à trouver dans une alimentation de tous les jours en sont aussi des sources très intéressantes.

Tableau II-2: Exemple de teneur d'aliments en Zinc.[37]

Aliment	Zinc (mg/100g d'aliment)
Huîtres fraîches (3 ou 4)	45-75
Palourdes	21
Germe de blé, son de blé	13 – 16
Noix du Brésil	7
Viandes	4.5 - 8.5
Oeuf	3,5
Pain, blé entier	1.65

Etude Expérimentale

Produced with
Scantopdf

Chapitre IV

Produced by Scantopdf

Matériel et méthodes :**IV.1 Matériel :****IV.1.1 kit pour les dosages biochimiques :**

- Kit pour le dosage du glucose
- Kit pour le dosage des protéines totales
- Kit pour le dosage des transaminases.
- Kit pour le dosage de la créatinine.
- Kit pour le dosage de l'urée.

IV.1.2 Réactifs et solvants :

- Sulfate de zinc($ZnSO_4$)
- Sulfate de nickel ($NiSO_4 \cdot 6H_2O$).
- Sérum salé 0.9‰

IV.1.3. Appareillage et verrerie :

- Centrifugeuse.
- Centrifugeuse à froid
- Spectrophotomètre à UV.
- Cuves.
- Coulter
- Balance de précision.
- Vortex.
- Tubes sec et à hémolyse.
- Portoirs.
- Bêchers.
- Pipettes pasteur et graduées.
- Seringues

IV.2 Méthodes d'analyse

IV.2-1 Matériel biologique :

Les lapins blancs et gris. Sont des mammifère nocturne de l'ordre des rongeurs.

IV.2.2 Elevage des lapins :

Les lapins sont élevés dans des cages en polyéthylène, équipées de biberons et de mangeoires. Ils sont acclimatés pendant 15 jours aux conditions de l'animalerie : la température est de $25 \pm 2C^0$, l'hygrométrie de 50 % et une photopériode normale (mois de Mars-Avril). La nourriture présentée aux Lapins est confectionnée sous forme de salades et du pin.

Les cages ont été nettoyées et la litière changée tous les jours.

Le poids de ces lapins varie de 700-1000g.

IV.2.3 Traitement des lapins

Les 15 lapins males ont été répartis sur trois lots de cinq lapins chacun. Le premier lot considéré comme témoin, a été traité avec du sérum salée à 0.9%. Pour le second, lui a été administré un mélange composé de sulfate de zinc et du nickel dont les concentrations sont respectivement 100 ug/Kg et 20 ug/Kg. En ce qui concerne le troisième, lui a été injecté une solution aqueuse de sulfate de nickel. la dose dont il a été fait usage est de 20 ug/Kg. La voie d'administration utilisée est : intra péritonéale.

IV.2.4- Prélèvement des échantillons :

Aux quizièmes jours, les lapins sont sacrifiés le matin pour éviter l'effet de stress à jeun. Les échantillons sanguins, sont recueillis dans deux différents tubes : l'un à EDTA : destiné aux dosages des paramètres hématologiques qui sont l'hémoglobine, l'hématocrite, le nombre des globules rouges et les globules blancs, ainsi que les constantes hématologiques : VGM, CCMH et le TGMH. L'autre sec subit une centrifugation à 3000 tours/minute pendant 10 minutes ; ensuite le sérum résultant est récupéré puis placé à $-20C^0$. Il est destiné aux dosages du : glucose, du cholestérol, des protéines totales, des transaminases (TGO/TGP) de l'urée et la créatinine.

IV-2-5- Dosage des paramètres biochimiques :

Pour la détermination des paramètres biochimiques. Il a été utilisé pour les réactions les volumes portés dans le tableau 8. Les paramètres cités dans la même ligne ont la même prise d'essai.

Tableau IV-1: Volumes utilisés pour la détermination des paramètres biochimiques

Paramètres biochimiques	Volumes			
		Blanc	Standard	Echantillon
Glycémie Urée	Réactif (ml)	1	1	1
	Standard (µl)	-	10	-
	Echantillons (µl)	-	-	10
TGO/TGP	Réactif (µl)	-	-	100
	Echantillon(µl)	-	-	10

Protéines totales	Réactif ()	1	1	1
	Standard ()	-	25	-
	Echantillon ()	-	-	25
Créatinine	Réactif (ml)	1	1	1
	Standard (µl)	-	100	-
	Echantillon (µl)	-	-	100

La composition des solutions utilisées pour les dosages est mentionnée dans le tableau IV-2

Tableau IV-2 : Solutions utilisées dans les dosages des paramètres biochimiques

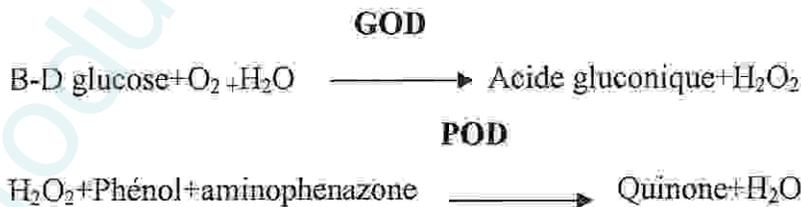
Paramètres biochimiques.	Tompon (R1)	Concentration mM	Enzymes (R2)	Concentration μ l
Glycémie	Tris pH 7.4	92	Glucose oxydase (GOD)	15000
	Phénol	0.3	Peroxydase (POD) 4-Aminophénazone (4-AP)	1000 2.6 mmol/l
Urée	Tris pH7.8	80	Uréase	3750
	A-cétoglutarate	6	Glutamate déshydrogénase (GLDH) NADH	6000 0.32mmol/l
Créatinine	Acide picrique (réactif picrique)	17.5	Sodium hydroxyde	0.29 mmol/l
Protéines totales	Biuret	15		
	Tartarate de sodium potassium Iodide de sodium Iodide potassium Sulfate de cuivre	100 5 mmol/l 19 mmol/l		

TGP	Réactif (1)/10 volumes Tris pH7,5. L-Alanine. LDH	110 600. > 1500 μ /l	Réactif 2 (1 volume). α - cétooglutarate. NADH	213 mmol/l 2.4 mmol/l
TGO	Tris pH7.8. L-Aspartate LDH MDH	88 290 > 1500 μ /L > 800 μ /L	α - cétooglutarate NADH	173 mmol/l 2.5 mmol/l

IV-3-Dosage des paramètres énergétiques :

IV-3-1: Dosage de la glycémie :

La méthode utilisée est décrite par **Barhamet trinder,1972**. Le glucose est mesuré après une oxydation enzymatique en présence du glucose oxydase (GOD). Le H_2O_2 formé réagit grâce à l'action catalytique d'une peroxydase avec du phénol et la 4-aminophénazone, pour former un composé rouge violet. Les réactions sont les suivantes :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du glucose dans l'échantillon. Le mélange (tabl. IV-2) est incubé à $37\text{ }^\circ\text{C}$ pendant 10 minutes pour la stabilisation de la couleur. La densité optique est mesurée à une longueur d'onde $\lambda = 500\text{nm}$. la couleur à persisté 30 minutes.

La concentration du glucose est donnée par la relation suivante :

$$\text{Glucose} = \frac{\text{DO Échantillon}}{\text{DO Standard}} \times 100 \text{ (concentration du standard)}$$

Légende

DO : densité optique

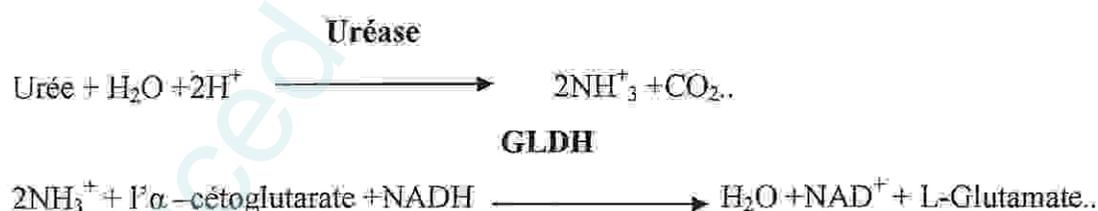
Unités :

Glucose : (g/l) ou mg/dl

Standard : 100mg/dl

IV-3-2- Dosage de l'urée :

La méthode utilisée est celle décrite par Patton crouch, 1977. L'urée présente dans l'échantillon est hydrolysée enzymatiquement en ammoniac (NH_3^+) et en dioxyde de carbone (CO_2). Les ions d'ammoniac formés réagissent avec l' α -cétoglutarate en présence du glutamate deshydrogénase (G - LDH). Il se produit une oxydation simultanée du NADH en NAD^+ .



La diminution de la concentration du NADH est proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillon. Après incubation du mélange à 37C^0 ; la densité optique est déterminée après 30 et 90 secondes à une longueur d'onde $\lambda=340 \text{ nm}$.

La concentration est donnée par la formule suivante :

$$\text{Urée} = \frac{\Delta \text{ DO Echontillon}}{\Delta \text{ DO Standard}} \times 50 \text{ (concentration du standard).}$$

Légende:

Δ DO Echontillon : variation de la densité optique de l'échantillon.

Δ DO Standard : Variation de la densité optique du standard.

Unités :

Urée : g/l ou mg/dl

Standard : 50 mg/dl.

IV-3-3 Dosage de la créatinine :

La méthode de **Butis, 1999**, est basée sur la réaction du picrate de sodium avec la créatinine, lorsque cette dernière réagit avec l'alcaline picrate, il se produit un complexe rouge.

Après incubation du mélange à 37C⁰ et à une longueur d'onde $\lambda = 492 \text{ nm}$; il est effectué une lecture de la densité optique à 30 secondes puis une deuxième à 90 secondes. La formule permettant de calculer la concentration de la créatinine est la suivante :

$$\text{Créatinine} = \frac{\Delta \text{ DO Echontillon} - \Delta \text{ DO Blanc}}{\Delta \text{ DO Standard} - \Delta \text{ DO Blanc}} \times 2 \text{ (concentration du standard).}$$

Légende :

Δ DO Echontillon : variation de la densité optique de l'échantillon.

Δ DO Blanc : variation de la densité optique du blanc (eau distillée).

Δ DO Standard : variation de la densité optique du standard.

Unité :

La concentration de la créatinine est exprimée en g/l ou mg/dl.

IV-3-4- Dosage des protéines totales :

Le taux des protéines totales est déterminé par la méthode rapportée par **Doumas, 1984**. Le principe est basé sur la formation d'un complexe cuivrique de couleur bleu dans un milieu faiblement alcalin.



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration des protéines totales dans l'échantillon. Après incubation du mélange à 37C^0 pendant 5 minutes, les absorbances sont déterminées à une longueur d'onde $\lambda = 540 \text{ nm}$ contre un blanc. La couleur a persisté une demi-heure. La formule donnant la concentration des protéines totale est :

$$\text{Protéines totales} = \frac{\text{DO Echantillon}}{\text{DO Standard}} \times 7(\text{concentration du standard}).$$

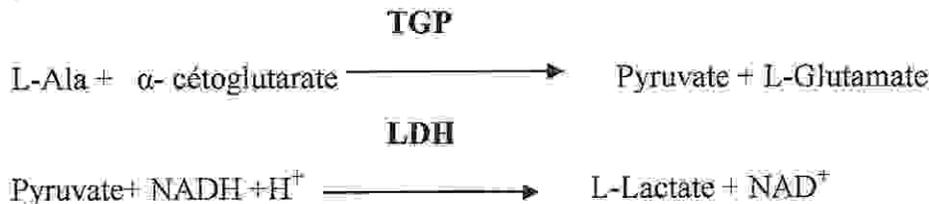
Unités :

Protéines totales g/dl

Standard : 7g/dl .

IV-3-5- Dosage des transaminases :**a) Dosage de l'alanine aminotransférase (ALT/TGP) :**

La méthode décrite est celle de **Bergmer, 1976**. La glutamate -pyruvate transaminase, catalyse le transfert du groupe aminé de l'alanine vers l' α - cétooglutarate pour donner le L-glutamate. Les niveaux les plus élevés de cette enzyme sont rencontrés dans le foie et le rein.



Après incubation du mélange à 37C⁰ pendant 1 minute, et à une longueur d'onde $\lambda=340\text{nm}$; la variation de la densité optique par minute ($\Delta \text{DO} / \text{min}$) pendant 3 minutes est mesurée. La formule donnant la concentration du glutamate pyruvate transaminase (TGP) est :

$$\text{Activité TGP} = (\Delta \text{DO} / \text{min}) \times 1746.$$

La concentration est exprimée en $\mu\text{I/L}$.

b) Dosage de l'asparagine aminotransférase (AST/TGO) :

La méthode décrite est celle de Bergmer, 1976. L'aspartate aminotransférase ou la glutamate oxalo-acétate catalyse le transfert du groupe aminé vers l' α cétooglutarate pour donner du L-glutamate. Cette enzyme est abondante au niveau du cœur, du muscle, du foie et des reins.



MDH: malate déshydrogénase.

Le mélange est incubé à 37C⁰ pendant 1 minute, à une longueur d'onde $\lambda=340\text{nm}$, la variation de la densité optique est mesurée chaque minute ($\Delta \text{DO} / \text{min}$) pendant 3 minutes. la formule permettant de calculer l'activité de la TGO est :

$$\text{Activité TGO} = (\Delta \text{DO} / \text{min}) \times 1746.$$

La concentration est exprimée en $\mu\text{I/L}$.

IV-4) Dosage des paramètres hématologiques :

Le coultre automatique a été utilisé pour évaluer la toxicité hématologique. Ce coultre aspire 2 ml de sang et les résultats sont donnés sur une fiche imprimée. Les paramètres sont ceux de la formule numérique sanguine complète: Nombre des globules rouges, l'hémoglobine, l'hématocrite, nombre des globules blanc, VGM et le CCMH.



Figure VI-1: le coultre hématologique

IV-5) Etude statistique :

Les résultats sont représentés sous forme de moyenne \pm erreur standard moyen, à l'aide du teste " t " de student et de l'ANOVA suivie du teste de **Dunnet**, grâce au logiciel de MINITAB (Min, Ver.13.31) . Une valeur de $p < 0,05$ a été considérée comme significative.

Chapitre V

Produced by Scantopdf

Résultats et discussions :

V- Résultats :

V-1 Evaluation biochimique :

V-1-1 Effet sur la fonction hépatique :

Tableau V-1: Valeurs moyennes et écarts types moyens (SEM), des transaminases (TGO/TGP) déterminées dans le sang des lapins soumis à l'influence des doses de nickel ; nickel/zinc et du sérum salée.

Paramètres hépatiques	Lots expérimentaux			
	Essai	Témoin	Lot 1	Lot 2
	Elément chimique	Ni Ni +Zn	Ni	Zn+Ni
	Dose µg/Kg	0	20	100+20
TGO (UI/L)		50.88± 6.13	160.35±5.11***	49.92± 3.80
TGP (UI/L)		44.36± 3.13	140.33± 16.4***	50.19± 4.01

Chaque valeur est exprimée en : moyenne ± écart type moyen (SEM) pour les cinq lapins de chaque lot. Par le test de Dunnet.

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$ en comparaison entre le premier et les deux autres lots.

Les résultats concernant les activités sériques des transaminases (TGO, TGP) mentionnées dans le tableau VI-I et La figures (V-1), montrent une augmentation hautement

significative pour les transaminases ($p < 0.000$), suite à l'injection du sulfate de nickel. La co-administration du zinc au nickel tend à restaurer les niveaux altérés.

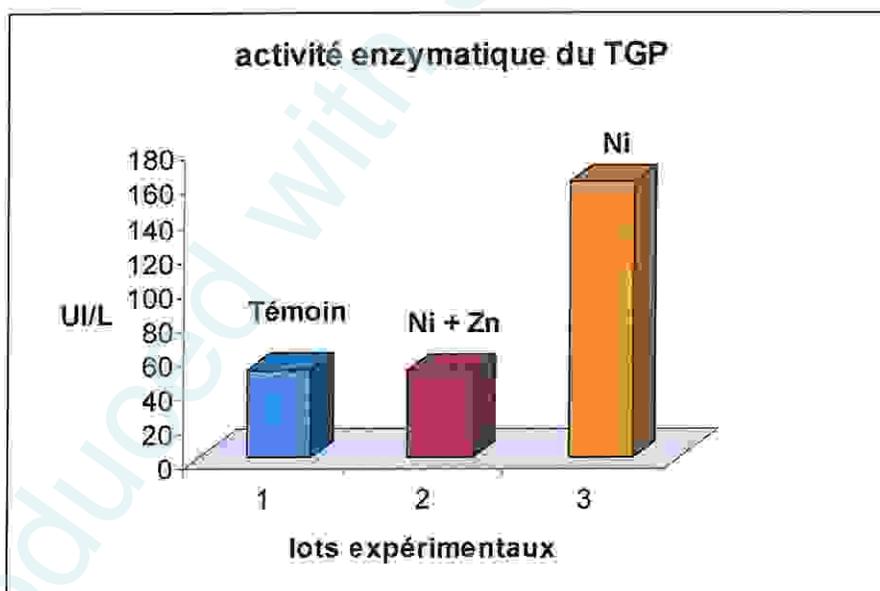
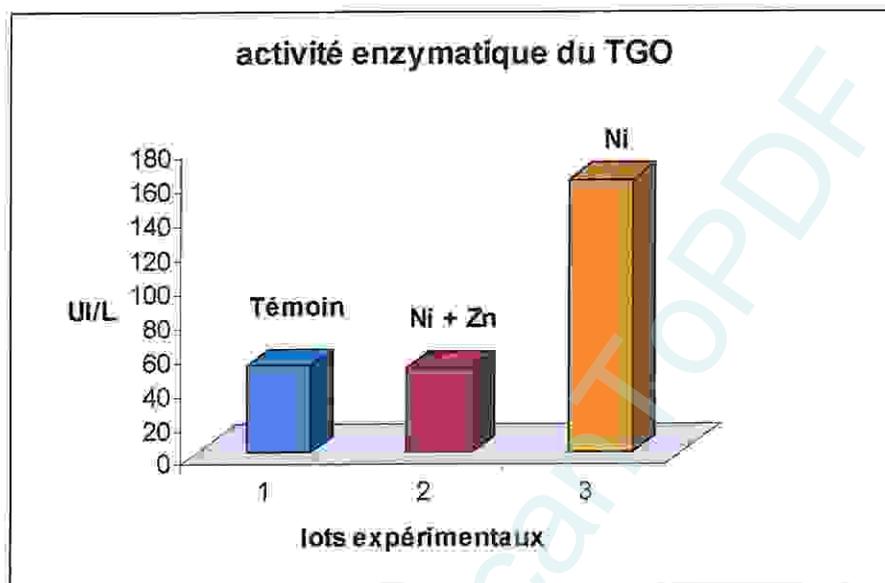


Figure V-1: Variation des transaminases sériques, chez les lapins témoins et traités, pendant 2 semaines chez les lapins traités par le nickel (20ug/Kg, zinc-nickel (100+20) mg/Kg et du sérum salé 9‰ par voie intrapéritonéale. Les valeurs présentent la moyenne \pm SEM pour chaque groupe (sept déterminations). $p < 0.05$ et 0.001 respectivement.

V-1-2 Effet sur la fonction rénale :

Tableau V-2 Valeurs moyennes et écarts types moyens (SEM) des taux d'urée, de créatinine sérique déterminées dans le sang des lapins soumis à l'influence des doses de nickel, nickel/zinc et du sérum salée :

Paramètres rénaux	Lots expérimentaux			
	Essai	Témoin	Lot 1	Lot 2
	Elément chimique	Ni Zn+Ni	Ni	Zn+Ni
	Dose ug/Kg	0	20	100+20
Urée (mg/d)		0.44 ± 0.04	1.99 ± 0.11 ^{***}	0.45 ± 0.09
Créatinine (mg/d)		2.00 ± 0.24	36.27 ± 0.85 ^{***}	1.59 ± 0.08

Chaque valeur est exprimée en : moyenne ± écart type moyen (SEM) pour les cinq lapins de Chaque lot. Par le test de Dunnet.

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$; en comparaison entre le premier et le deux autres lots..

L'administration, du nickel induit une augmentation hautement significative du taux de l'urée et de la créatinine ($p < 0.001$) et l'apport du zinc tend à normaliser ces valeurs. ($p > 0.05$) Tableau et figure (V-2).

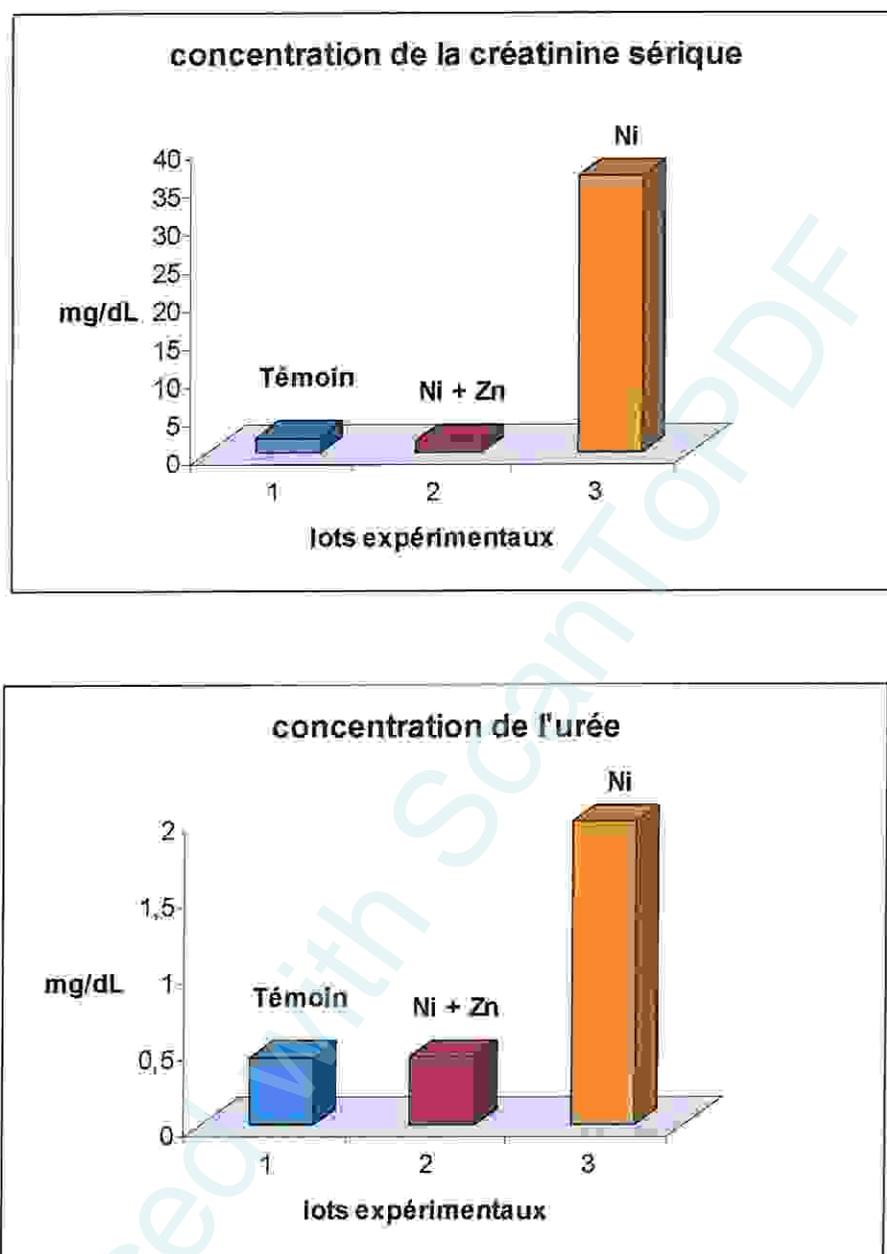


Figure V-2: Changements sériques des marqueurs rénaux : urée, créatinine pendant 15 jour des lapins traités par le nickel (20ng/Kg) ; nickel-zinc (20+100 ug/Kg) et le sérum salé 9‰ par voie intrapéritonéale. Les valeurs présentent la moyenne \pm SEM pour chaque groupe (cinq déterminations), $p < 0.001$

V-1-3 Effet sur les autres paramètres du profil énergétique :

Tableau V-3 Valeurs moyennes et écart types des concentrations des paramètres du profil énergétique déterminés dans le sang des lapins soumis à l'influence des doses de nickel ; zinc nickel et du sérum salée.

Paramètres	Lots expérimentaux			
	Essai	Témoin	Lot 1	Lot 2
	Elément chimique	Ni	Ni	Zn +Ni
		Zn +Ni		
Dose ug/Kg	0	20	100+20	
Glucose (g/l)		0.96 ± 0.10	1.99 ± 0.18***	0.98 ± 0.09
Protéines totales (g/dl)		5.88 ± 0.18	3.98 ± 0.16***	6.62 ± 0.17*

Chaque valeur est exprimée en : moyenne ± écart type moyen (SEM) pour les cinq lapins de chaque lot. Par le test de Dunnet.

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$ en comparaison entre le premier lot et les deux autres lots.

D'après le tableau V-3 et la figure (V-3), On a constaté que la concentration sérique du glucose augmente de façon hautement significative ($p < 0.001$) chez le lot traité par le sulfate de nickel par rapport aux deux autres lots (le lot témoin et le lot traité par les deux métaux); En revanche, les protéines totales présentent d'une part, une augmentation significative chez les lapins traités par les deux métaux ($p < 0.05$), et d'autre part, une diminution hautement

significative ($p < 0.001$) chez les lapins traités par cette forme du corps toxique : sulfate de nickel.

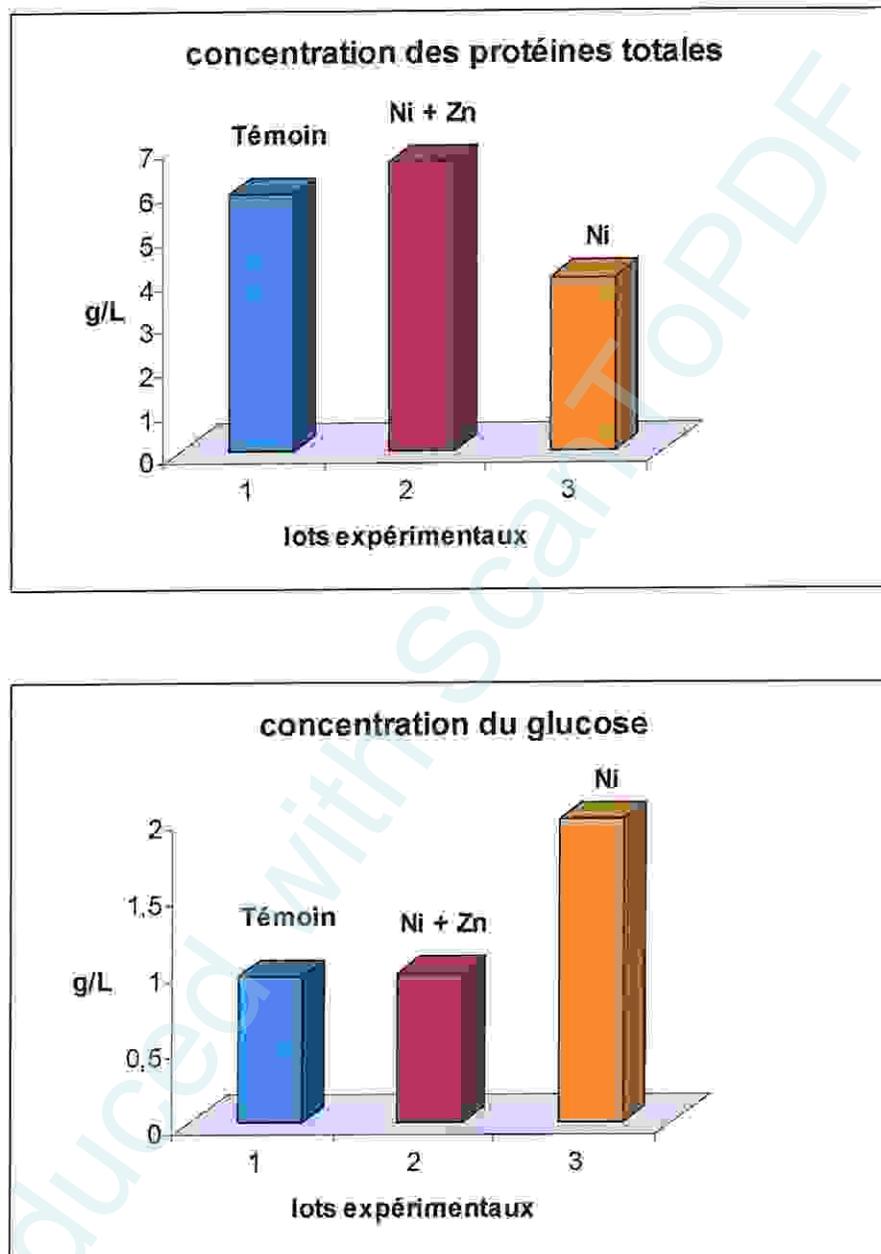


Figure V-3 : Changements sériques des paramètres du profil énergétiques : glucose, protéines totales, pendant 2 semaines chez les lapins traités par le nickel (20ug/Kg, zinc -nickel (100+20) mg/Kg et du sérum salé 9% par voie intrapéritonéale. Les valeurs présentent la moyenne \pm SEM pour chaque groupe (sept déterminations). $p < 0.05$ et 0.001 respectivement.

V-1-4 Effet sur les paramètres hématologiques :

Tableau V-4 Valeurs moyennes et écarts types moyens des paramètres hématologiques déterminés chez les lapins soumis à l'influence des doses de nickel, zinc nickel et du sérum salé.

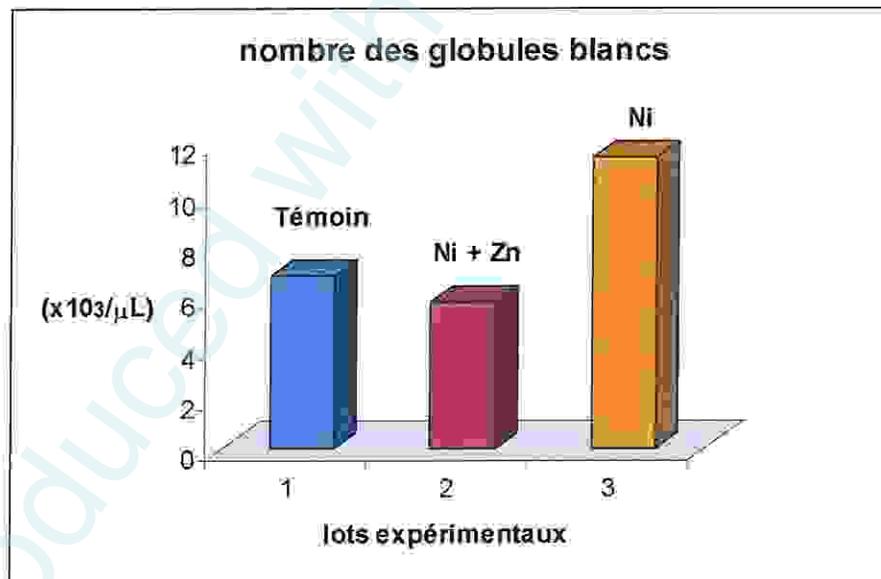
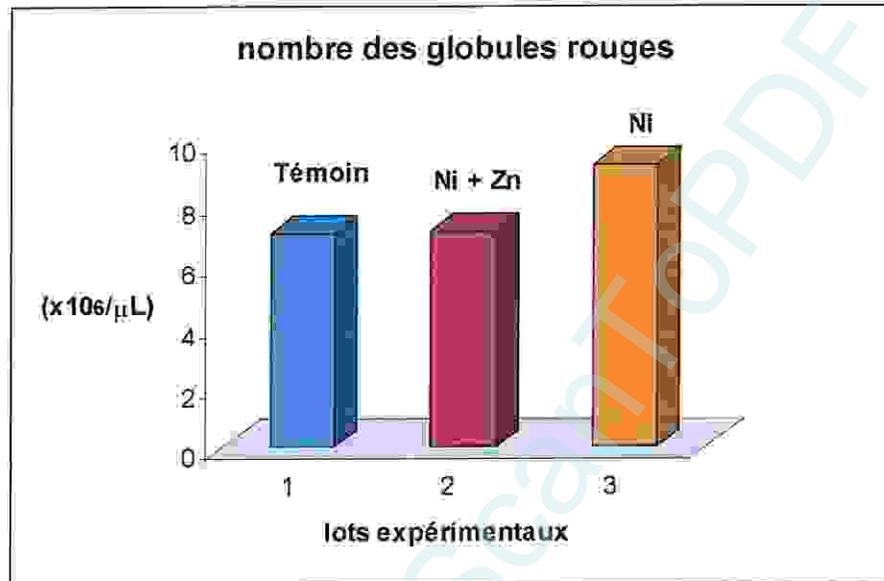
Paramètres	Lots expérimentaux			
	Essai	Témoin	Lot 1	Lot 2
	Elément chimique	Ni Zn+Ni	Ni	Zn+Ni
	Dose ug/Kg	0	20	100+20
RBC.($\times 10^6$ / μ L)		7.00 \pm 0.22	9.25 \pm 0.20***	7.06 \pm 0.03
WBC ($\times 10^3$ / μ L).		6.80 \pm 0.58	11.44 \pm 0.60***	5.76 \pm 0.18
Hb (g/dl).		13.59 \pm 0.27	14.24 \pm 0.22***	13.26 \pm 0.11
HCT (%)		37.00 \pm 1.06	44.98 \pm 1.17***	36.16 \pm 0.69

Chaque valeur est exprimée en : moyenne \pm écart type moyen (SEM) pour les cinq lapins de chaque lot. Par le test de Dunnet.

* : $p < 0.05$ ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$; en comparaison entre le premier et le deux autres lots.

En ce qui concerne les paramètres hématologiques, on a observé une augmentation hautement significative des globules rouges ($p < 0.001$), de l'hémoglobine ($p < 0.001$) et de l'hématocrite ($p < 0.000$) chez les lapins traités par le sulfate de nickel par rapport aux témoins.

De plus, le nombre des globules blancs augmente de la même façon statistique chez le même lot. Pour le lot traité par la combinaison des deux métaux (Ni/Zn), les différences n'étaient pas significatives. Figure (V-4).



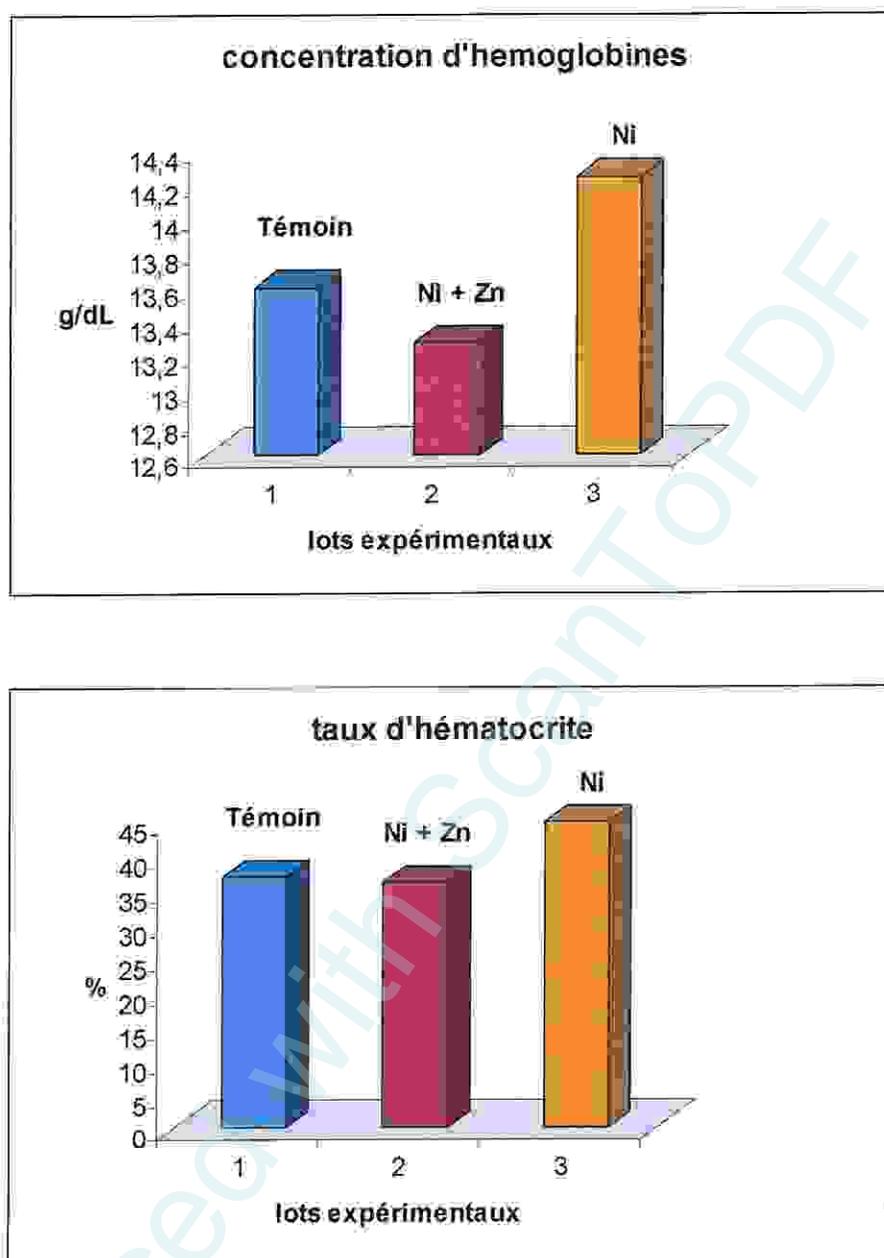


Figure V-4 : Variations des paramètres hématologiques :GB ;GR ;Hb ;HCT ; pendant 15 jours des lapins traités par le nickel (20ug/Kg), zinc-nickel (100+20 ug/Kg) et le sérum salé (9%) par voie intrapéritonéale. . Les valeurs présentent la moyenne \pm SEM pour chaque groupe (sept déterminations). $p < 0.001$ et 0.05 .

VI- Discussions :

La physiologie chez les mammifères, est très sensible aux perturbations de l'organisme par des agents exogènes [38] ; plusieurs composés exogènes incluent les pesticides, les drogues, les solvants organiques, les tabac, les xénohormones, les métaux lourds tel que : le nickel, le vanadium et le cadmium. Bien que le mécanisme biochimique de leur toxicité ne soit encore bien compris, ils sont considérés comme de véritables agents toxiques .

Afin d'évaluer la toxicité du nickel et l'effet protecteur du Zinc sur le profil énergétique, hépatique, rénale, hématologique chez les lapins ; on a administré par voie intrapéritonéale chaque jours et pendant 15 jours 20ug/Kg de l'élément toxique et 100 ug/Kg de l'antioxydant.

En ce qui concerne les paramètres du profil énergétique : on a enregistré une augmentation du glucose sérique chez les lapins traités au sulfate de nickel par rapport aux témoins. Cette hyperglycémie est due à l'augmentation de l'activité de l'oxyde nitrique synthétase (NOS) ; et du GMP cyclique [39]. Ces réactions sont responsables de la modulation dans la libération d'insuline (hypo insulinémie) avec une concomitante manifestation de l'hyperglycémie. Ce stress induit par ce xéno biotique réduit l'action d'insuline car les cellules B du pancréas sont plus sensibles et susceptibles aux radicaux libres que d'autres tissus [38] ; il se produit une diminution consistante de l'expression des transporteurs du glucose . Des études ont montrés que le nickel inhibe la sécrétions d'insuline chez les rats [40], elles suggèrent que cette hyperglycémie est due à l'hyperglucogénèse [41]. Antonio cellio 2000 [42], a montré que la pénétration membranaire des groupements thiols dérègle la sécrétion d'insuline, cependant une augmentation extracellulaire du glutathion stimule les cellules β du pancréas au glucose . Les résultats concordent avec les résultats publiés de Sanjay et al., 2004 ; N.Hfaïdh et al.2008 et de Rauene et al.,2007) [43 , 44,45]. Il a été engendré une dégradation des protéines : résultats de l'action de ce toxique sur les protéines protéases. Cette dose exerce un effet activateur de cette hydrolase. Les résultats concordent avec ceux obtenue par Dostal et al (1989) ; Davenport et al, 1994 et Sidhu P et al ,2004. [46,47,48] .

Pour le lot traité à la combinaison des deux métaux, on a constaté que les valeurs obtenues pour les paramètres cités ne sont pas altérées et qu'elles étaient proches aux valeurs du lot témoin. Ceci montre l'action **antagoniste** de cet oligoélément sur ce xénobiotique. Il prévient l'organisme des effets néfastes de la peroxydation lipidique ; en agissant comme un antioxydant protecteur des perturbations métaboliques engendrées par le sulfate de nickel. Il est bien connu d'après la littérature que le zinc **stabilise** d'une part la synthèse des enzymes antioxydantes. D'autre part, il **induit** la production de métallothionéines, riches en cystéine, qui peuvent piéger les radicaux hydroxyles. Ceci entraîne la formation de ponts disulfures et, ainsi, le relargage de zinc qui pourrait alors être capté par les membranes. Aussi d'après les résultats ; la dose utilisée n'était pas suffisante pour complexer complètement ce xénobiotique ; les ions non neutralisés sont responsables des légères perturbations métaboliques constatées.

Concernant le bilan hépatique, on a observé une perturbation des paramètres notamment les transaminases (**TGO/TGP**) chez le lot traité au sulfate de nickel ; ceci suggère que la forte activité de la TGO/TGP est liée aux effets hépatotoxique de ce corps toxique qui altère l'architecture des biomembranes des hépatocytes, ce qui engendre une modification de la perméabilité moléculaire : libération des enzymes fonctionnelles dont le compartiment est cytoplasmique. Selon d'autres mécanismes, l'augmentation des activités sériques des transaminases est un indicateur de « **fuite enzymatique** » qui est due aux altérations membranaire suite à la surproduction des radicaux libres sous l'action de ce toxique. Ces résultats sont similaires avec ceux obtenus par N.Hfaïdh et al.,2008 , Pond y Cols., 1992 et Das et al., 2006. [45 ,49,50].

L'étude sur la fonction rénale, montre une augmentation des marqueurs rénaux : l'urée et la créatinine sanguine après traitement au sulfate de nickel. Ce ci reflète l'interaction de ce dernier avec les membranes, en changeant la perméabilité et la filtration des molécules et des ions .

L'apport du zinc tend à minimiser ces fluctuations : il joue un rôle important au niveau membranaire en ayant un effet stabilisateur.

Après traitement par le sulfate de nickel, l'hématotoxicité, se manifeste par l'augmentation importante du nombre des globules rouges, de l'hémoglobine et de l'hématocrite. Ce phénomène a pour but, le remplacement des hématies hémolysés

L'augmentation des globules blancs explique que le rat mobilise ces capacités de défense, pour lutter contre les infections causées par ce xénobiotique. Aussi, le nickel affecte le système immunitaire en induisant la libération d'interleukine I qui agit sur la maturation des

lymphocytes .Les résultats sont similaires avec ceux obtenus par Chang Yu et al, 1998. [51].La co-administration des deux métaux restaure les niveaux altérés. Ce ci est du au rôle exercé par le zinc dans la régulation de l'expression des cytokines pour le bon fonctionnement des cellules du système immunitaire.

Produced with ScanTOPDF

Conclusion :

Qu'elle que soit la conséquence d'une contamination avec des métaux lourds ou qu'elle que soit en rapport avec la toxicité biochimique la production de radicaux libres oxygénés est un fait indiscutable, mais dont le rôle physiologique n'est pas toujours clair.

En regard de ces phénomènes potentiellement délétères, différents processus de défense existent.

Leur rôle est plus de contenir la propagation de l'agression radicalaire que de l'interdire totalement, suggèrent que cette production radicalaire n'est pas totalement dénuée de sens physiologique.

En revanche tout déséquilibre (en rapport avec une augmentation de la production radicalaire ou une diminution des défenses) est susceptible d'entraîner des dégâts cellulaires qui pourraient être à l'origine de certaines pathologies et qui dans tous les cas aggravent une pathologie préexistante.

- [1] Alain Favier. (2003). Le stress oxydants: mécanismes biochimiques: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité chimique*, 108-115.
- [2] Tapiero, H., Townsend, D. and KD. T. (2003). The antioxidant role of selenium and selenocompounds. *biomedicine and pharmacotherapy* 57: 134-144.
- [3] ATSDR (1997) - Toxicological Profiles for nickel. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA: U.S Department of Health and Human Services, Public Health Services. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp15.html>.
- [4] Sunderman Jr F.W., Hopfer S.M., Sweeney K.R., Marcus A.H., Most and B.M., Creason J. (1989). Nickel absorption and kinetics in human volunteers. *Proc. Soc. Expo. Biol. Med.* 191, 5-11.
- [5] Christensen O.B. and Lagesson V. (1981) - Nickel concentration of blood and urine after oral administration. *Ann Clin Lab Sci.* 11, 2, 119-125
- [6] Solomons N.W., Viteri F., Shuler T.R. and Nielsen F.H. (1982) - Bioavailability of nickel in man: effects of foods and chemically-defined dietary constituents on the absorption of inorganic nickel. *J Nutr.* 112, 1, 39-50.
- [7] OMS (PCS (1991) - Environmental Health Criteria n° 108: nickel. World Health Organisation, International Programme on Chemical Safety.
- [8] RIVM (2001) - Re-evaluation of human-toxicological maximum permissible risk levels. National Institute of Public Health and the Environment. 711701 025.78-81.
- [9] Sarkar B. (1984) - Nickel metabolism. Nickel in the Human Environment. Lyon, France, IARC Scientific Publication, vol 53, pp. 367-384.
- [10] Ishimatsu S., Kawamoto T., Matsuño K. and Kodama Y. (1995) - Distribution of various nickel compounds in rat organs after oral administration. *Biol Trace Elem Res.* 49, 1, 43-52.
- [11] Dostal L.A., Hopfer S.M., Lin S.M. and Sunderman F.W. (1989) - Effects of nickel chloride on lactating rats and their suckling pups, and the transfer of nickel through rat milk. *Toxicol Appl Pharmacol.* 101, 2, 220-231.
- [12] Shi Z.C. (1986) - Acute nickel carbonyl poisoning: a report of 179 cases. *Br J Ind Med.* 43, 6, 422-424.
- [13] Hirano, S., Shimada, T., Osugi, J., Kodama, N and Suzuki, K.T (1994) Pulmonary clearance and inflammatory potency of intracheally instilled or acutely inhaled nickel sulphate in rats. *Arch Toxicol.* 68(9), 548-554.

- [14] Cornell R.G. and Landis J.R. (1984) - Mortality patterns among nickel/chromium alloy foundry workers. Nickel in the Human Environment. Lyon, France, IARC scientific publication, vol n°53, pp. 87-93.
- [15] Ambrose A.M. et al. Long term toxicologic assessment of nickel in rats and dogs – J. Food Sci. Technol., 1976, 13, 181-187.
- [16] Dieter MP, Jameson CW, Tucker AN, Luster MI, French JE, Hong HL, Boorman GA. (1988). Evaluation of tissues disposition, myelopoietic and immunologic responses in mice after long-term exposure to nickel sulfate in the drinking water. J. Toxicol. Environ. Health 24,356-372.
- [17] Chen CY, Wang YF, Huang WR, Huang YT. 2003 Nickel induces oxidative stress and genotoxicity in human lymphocytes. Toxicol Appl Pharmacol. 189, 153-159
- [18] Montanaro L, Cervellati M, Campoccia D, Prati C, Breschi L, Arciola CR. 2005 No genotoxicity of a new nickel-free stainless steel. Int J Artif Organs. 28, 58-65.
- [19] E. Fontaine (1998) production et élimination des radicaux libres oxygénés Bp217,38043 Grenoble cedex 9
- [20] Caroline Januael (2003) Stress oxydant au niveau des plaquettes sanguines humaines dans la contexte du diabète .
- [21] Wolin M.S (1996) Réactive oxygen species and vascular signal transduction mechanisms microcirculation, vol 3(1) p 1-17.
- [22] Sies H, Akerboom TP (1984) glutathione disulfide (GSSG) efflux from cells and method enzymol :Vol 105, P445-451.
- [23] Squier T,C (2001) oxidative stress and protein aggregation during biological aging experimental gerontology 36,1539-50.
- [24] Davies M,J, and Slater T,F (1987) Studies on the metal-ion and lipoxygenase catalysed breakdown of hydroperoxyde using electron spin resonance spectroscopy –the biochemical journal 245-167-73.
- [25] Yves Nzyenegue (2008) comparaison des mécanismes de toxicité redox du cadmium, du cuivre et du zinc :Place des métallothioneines et de P53 ,P 38-46.
- [26] Hensley, K and Floyd, R ,A, (2002) réactive oxygen species and protein oxidation in aging a look back, a look ahead ,archives of biochemistry and biophysics 397, 377-83.
- [27] Wolff, S. P., Bascal, Z. A., and Hunt, J. V. (1989). "Autooxidative glycosylation": free radicals and glycation theory. Progress in clinical and biological research 304, 259-75.

- [28] Smith, M. A., Rudnicka-Nawrot, M., Richey, P. L., Praprotnik, D., Mulvihill, P., Miller, C.A., Sayre, L. M., and Perry, G. (1995). Carbonyl-related posttranslational modification of neurofilament protein in the neurofibrillary pathology of Alzheimer's disease. *Journal of neurochemistry* 64, 2660-6.
- [29] Fridovich I. The trail to superoxide dismutase. *Protein Sci.*, 1998, Vol 7(12), p. 2688-2690.
- [30] Blondeau, C., Sava, P., Toubin, G., Belon, J.P., Magnin, P., Gillet, M. Activités des enzymes antioxydantes plaquettaires au cours de l'athéropathie. *Pathol. Biol.*, 1987, Vol 35(8), p. 1115-1118.
- [31] Hall L., Williams K., Perry A.C.F., Fryne J., Jury J.A. The majority of human glutathione peroxidase type 5 (GPx 5) transcripts are incorrectly spliced implication for the role of GPx 5 in the male reproductive tract. *Biochem.J.*, 1998, vol 333,p.5-9.
- [32] Harrison D, Griending KK, Landmesser U, Horning B, Drexler H. (2003). Role of oxidative stress in atherosclerosis. *Am J Cardiol.* 91(suppl), 7A-11A.
- [33] Boosalis MG, Solem LD, Cerra FB, Konstantinides F, Ahrenholz DH, McCall JT, McClain CJ. (1991). Increased urinary zinc excretion after thermal injury. *J Lab Clin Med.* 118, 538-45.
- [34] Forman HJ, Fridovich I. (1973). On the stability of bovine superoxide dismutase. The effects of metals. *J Biol Chem.* 248, 2645-9.
- [35] Powell SR. (2000). The antioxidant properties of zinc. *J Nutr.* 130, 1447S-54S.
- [36] Richard claeysen (2009), Zinc et brûlure : Étude du statut en zinc et de l'influence de la supplémentation sur un modèle animal de brûlure sévère, approche métabolique et moléculaire p :
- [37] Bray TM, Kubow S, Betger WJ. (1986). Effect of dietary zinc on endogenous free radical production in rat lung microsomes. *J Nutr.* 116, 1054-60.
- [38] Jegou B. (juin 1996) Les hommes deviennent-ils moins fertiles Moins de spermatozoïdes et de qualité moindre, L'environnement en question. *La Recherche*, 288 : 60-65
- [39] Bujan L. (1998) Environnement et spermatogenèse. *Contracept. Fertil. Sex.* 26 (1) : 39-48.
- [40] Cartaña, J., Romeu, A., Arola, L., 1992. Effects of copper, cadmium and nickel on liver and kidney glutathione redox cycle of rats (*Rattus sp*). *Comp. Biochem. Physiol. C.* 101, 209-213.
- [41] Heffetz D, Bushkin J, Dror R, et al (1990) : the insulinomimetic agent H₂O₂ and vanadate stimulate protein tyrosine phosphorylation in intact cells . *J Biol Chem* 265 p 2896-2902.

- [42] Antonio Cerriello-2000 Oxidative stress and glycemic regulation .Metabolisme 49(2). 27-29.
- [43] Sanjay Gupta; Nihal Ahmed; Mirza M.Husain and Ramesh; C.Srivastava .2000. Involvement of nitric Oxide in nickel-induced Hyperglycemia in rats. Biology and chemistry. 4(2). 129-138.
- [44] Hfaiedh ; Mohamed Salah Allagui ; Mbark Hfaiedh; Abdelfattah El Feki; Lazhar Zourgui; Françoise Croute.2008 .Protective effect of Cactus (*Opuntia Ficus Indica*) Cladode extract upon nickel induced toxicity in rats. Food and chemical toxicology.4627.1-20.
- [45] Rauen, U., Li, T., Ioannidis, I., de Groot, H., 2007 Nitric oxide increases toxicity of hydrogen peroxide against rat liver endothelial cells and hepatocytes by inhibition of hydrogen peroxide degradation. Am. J. Physiol. Cell. Physiol. 92, C1440-1449.
- [46] Dostal, L.A., Hopfer, S.M., Lin S. M and Sunderman, FW, Jr . (1989). Effects of nickel chloride on lactating rats and their suckling pups, and the transfer of nickel through rat milk . Toxicol Appl Pharmacol. 101 (2), 220-31.
- [47] Davenport DJ, Mostardi RA, Richardson DC, Gross KL, Greene, KA, Blair K (1994) Protein-deficient diet alters serum alkaline phosphatase, bile acids, protein and urea nitrogen in dogs. *J Nutr*; 124: 2677S-79S.
- [48] Sidhu, P., Garg, M.L., Dhawan, D.K., 2004. Protective role of zinc in nickel induced hepatotoxicity in rats. Chem. Biol. Interact. 150, 199-209.
- [49] Pond WC, Ellis KJ, Schoknecht P1992 Response of blood serum constituents to production of and recovery from a kwashiorkor -like syndrome in the young pig. *Proc Soc Exp Biol Med* 1992; 200:555-61.
- [50] Das, K.K., Gupta, A.D., Dhundasi, S.A., Patil, A.M., Das, S.N., Ambekar, J.G, 2006. Effect of L-ascorbic acid on nickel-induced alterations in serum lipid profiles and liver histopathology in rats. J. Basic. Clin]
- [51] Chang Yu. Chen , Yeau.Lih Huang and Le-Hsien-Zin -1998. Association between Oxidative stress and cytokine Production in nickel treated rats. Archives of biochemistry and biophysics 356(2). 127-132.

Résumé

Le Zinc est un oligoélément essentiel pour la majorité des organismes vivants. Cependant les effets toxiques du nickel ont été rapportés par la littérature dans de nombreux domaines. La compréhension de cette toxicité est rendue facile par l'apport des antioxydants tel que le Zinc. Le but de ce travail de mémoire était d'acquérir des connaissances sur les mécanismes impliqués dans le mécanisme de détoxification chez les lapins. Les objectifs étaient :

- D'appréhender les effets toxiques de ce corps chimique « le sulfate de nickel »
- Caractériser cette toxicité à différents aspects et niveaux d'organisation biologique
- Définir et comprendre les effets de la supplémentation par le Zinc, autrement dit : de mettre en évidence les mécanismes d'interaction entre ces deux métaux.

L'expérimentation menée dans 15 jours, a permis de mettre au point les différents aspects de cette toxicité à voir : l'aspect hépatique, rénal et hématoLOGIQUE. Il a été montré que le sulfate de nickel provoque effectivement des altérations physiologiques beaucoup plus néfastes pour l'organisme par le biais des espèces chimiques de haute réactivité appelées : radicaux libres ; en plus la dépression du statut antioxydant. Enfin, il a été prouvé que la supplémentation par cette forme inorganique de cet oligoélément, Zinc ; permet de prévenir l'organisme des dégâts engendrés par cette substance toxique, et qu'elle agit de façon **antagoniste et antioxydante**.

Mots clé : Zinc, sulfate de nickel, toxicité, peroxydation lipidique, métaux lourds, stress oxydatif.

Summary

Zinc is one oligoélément essential for the majority of the living organisms. However the toxic effects of nickel were reported by the literature in many fields. The comprehension of this toxicity is made easy by the contribution of antioxidants such as Zinc. The aim of this investigation was to acquire knowledge on the mechanisms implied in the mechanism of detoxification in the rabbit. The objectives were:

- to apprehend the toxic effects of this chemical body "nickel sulfate"
- To characterize this toxicity with different aspects and levels from biological organization
- To define and understand the effects of the supplementation by selenium, in other words; to highlight the mechanisms of interaction between these two metals.

The experimentation carried out in 15 days, allowed of meter the point the various aspects of this toxicity to be seen: the aspect, hepatic, renal and hematologic. It was shown that the nickel sulfate causes indeed physiological deteriorations more harmful for the organization by the means of the chemical species of high reactivity called: free radicals; in more the depression of the antioxidant statue. Lastly, it was proven that the supplémentation by this inorganic form of this oligoélément zinc, allows to prevent the organization of the damage generated by this toxic substance, and which it acts in an antagonistic and antioxidant way.

Keywords: zinc, sulfate of nickel, toxicity, lipid peroxidation, heavy metals, oxidative stress.

المُلخَص

الزنك هو عنصر مهم من اجل اغلبية الكائنات الحية في حين التأثيرات السمية لمادة النيكل قررت من طرف الكتاب في عدة مجالات .

الفهم الدقيق لهذه المادة السمية أصبح سهلا في وجود مضادات التأكسد مثل الزنك الهدف من هذا العمل التعرف على الطرق التطبيقية في إزالة التسمم عند الأرناب و الأهداف هي التالية:

- معرفة التأثيرات السمية لهذه العنصر الكيميائي سلفات النيكل .

- تصنيف هذه السمية في عدة مظاهر علي مستوى الجسم البيولوجي.

- تعريف و فهم التأثيرات الاستثنائية لمادة الزنك و معرفة طرق التعامل بين هاذين المعدنين

التجربة أقيمت مدة 15 يوم سمحت بالتعرف علي مختلف مظاهر هذه السمية علي مستوى الكبد

الكلية الدم و التي أثبتت بأن مادة سلفات النيكل تسبب بصورة عالية اتلافات فزيولوجية جد مضره علي الجسم ؛ بإصدار أنواع كيميائية ذات نشاط عالي تسمى: الجذور الحرة التي تقوم بإيقاف الأنظمة المضادة لتأكسد.

في النهاية تم إثبات بأن استثنائية هذا العنصر الغير عضوي الزنك يسمح بحماية الجسم من الكوارث

الناتجة عن هذه المادة السامة و الذي يكون في شكل مضاد لتأكسد.

الكلمات المفتاحية :

الزنك ، سلفات النيكل ، التسمم ، متعدد الأكسدة أدهني ، المعادن الثقيلة ، الضغط التأكسدي.

Produced with