

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

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

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE
L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



1.2/577

Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire : biologie moléculaire de procaryotes

Thème : contribution à l'étude de l'effet de la vitamine E sur la toxicité de plomb

Présenté par : Baradai Zinouba

Bouzit Hanane

Chenachena Soufila

Devant le jury composé de :

Président : Mr. Djekoun, Mouhamed. (M.C.A).

Examinatrice : M^{EME} Boukamara, Hanane. (M.A.A).

Examinatrice : M^{EME} Beddioui, Soraya (M.A.A).

Encadreur : M^{lle} Hamdiken Malika (M.A.A).

Juin 2012

Remerciements

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

M^{lle} HAMDIKEN MALIKA

Maitre assistant à l'Université de Guelma

Vous avez bien voulu nous confier ce travail riche d'intérêt et nous guide à chaque étape de sa réalisation. Vous avez toujours réserve 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. 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. Veuillez trouver ici l'expression de notre estime et notre considération.

Nos sincères remerciements et nos respect a monsieur BENOUARETH D.J, professeur a l'université de Guelm.

Que les honorables membre du jury veuillent croire en nos remerciement anticipés pour leur acceptation d'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier également monsieur BOUCHLEGHEM H, chef du département de biologie université de Guelma, pour son aide formelle et pour ses efforts de nous fournir les moyens pour réaliser ce travail,

Nous tenons également à remercier tous les techniciens de laboratoire de biologie de l'université de Guelma surtout M^{lle} Leïla Abasse .

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

Nos sincères remerciements vont au docteur BELGHARSSA MA médecin spécialiste à L'Hôpital IBN ZAHR, tout l'honneur lui revient.

Nous tenons à remercier également M^{EME} HABIBA ,RIMA ,BASMA , WAFI T,C du laboratoire d'urgence a l'hôpital Saïd Bedjawi, et monsieur CHIAKHA A,Z chef de services du laboratoire d'analyse à l'hôpital IBN ZAHR.

A toute personne qui a contribué de près ou de loin à réaliser ce modeste travail.

Produced with

Dédicace

*Je dédie tout particulièrement le fruit de mon travail à la personne du messager
D'ALLAH, MOHAMED que le salut soit sur lui, porteur d'espoir, homme de
dialogue et de tolérance, et illuminateur des mondes obscurs.*

أهدي ثمرة هذا العمل إلى أحسن خلق الله ، إلى معلم البشرية، إلى رجل الحوار و السلام ، إلى من أضاء العالم برسالاته
إلى الحبيب المصطفى محمد ، إليك يا رسول الله صلى الله عليه وسلم.

A mes parents.

A mes frères.

A mes collègues de master.

A tous mes amis.

A toute ma famille.

Hanane

Dédicace

Je voulais tout d'abord, remercier dieu de m'avoir donne le courage pour accomplir ce

Modeste travail, que je dédie :

*A mon cher père Allaoua et mon cher mère latraa pour l'affection , la patience ,
l'encouragement , qu'il m'ont donne toute ma vie , et toutes les épreuves difficiles traversées..*

A mes cher frères : Mohamed, Fayçal, Karim

A mes sœur : Sara, youssra.

A mes tantes et mes oncles

A mes chers amies : Amina, Sara, sihem, salima, fadila, hanen.

A tous ceux de la deuxième année Master BMP surtout Ali et Assade

A tout ceux qui m'aime,

A tous ce que j'aime

Souhila

Liste des Figures

Produced with ScanTOPDF

Liste des figures

N°	Figures	pages
01	Evolution de la production mondiale de plomb.	02
02	Cycle biogéochimique des éléments.	05
03	Les principaux radicaux libres et les mécanismes de détoxification.	14
04	Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire.	16
05	Lésions de l'ADN formées suite à un stress oxydant.	17
06	Structure du tocotriénols.	24
07	Structure du tocophérol.	25
08	schéma récapitulatif du protocole expérimental.	30
09	La courbe d'étalonnage de l'Aspartate Aminotransferase (ASAT/TGO).	42
10	La courbe d'étalonnage de l'Alanine Aminotransferase (ALAT/GPT).	42
11	Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovin.	45
12	l'effet de traitement sur la variation de la concentration sérique du glucose, du cholestérol et triglycérides chez les lots expérimentaux.	49
13	l'effet de traitement sur la variation de la concentration sérique de l'acide urique et de l'urée chez les lots expérimentaux.	51

Liste des figures

14	l'effet de traitement sur l'activité enzymatique de l'aspartate aminotransférase (ASAT /TGO), de l'alanine aminotransférase (ALAT/TGP) chez les lots expérimentaux.	52
15	l'effet de traitement sur la variation de la concentration sérique des protéines totales et du glutathion hépatique chez les lots expérimentaux.	54
16	l'effet de traitement sur la variation de la concentration sérique d'hémoglobine chez les lots expérimentaux.	55
17	Les coupes histologiques du foie ($\times 100$).	57

Produced with ScanTopDF

Liste des Tableaux

Produced with ScanTOPDF

Liste de tableaux

N°	Tableaux	Pages
01	Principales propriétés physico-chimiques du plomb.	03
02	Les enzymes anti-oxydantes.	19
03	la concentration sérique du glucose (mg / dl), du cholestérol (mg/dl), et triglycérides (mg/dl) chez les lots expérimentaux.	48
04	la concentration sérique de l'urée (mg/dl) , de l'acide urique (mg/l) chez lots expérimentaux.	50
05	l'activité enzymatique de l'aspartate aminotransférase (AST /TGO) (U/l), de l'alanine aminotransférase (ALT/TGP) (U/l) chez les lots expérimentaux.	51
06	la concentration sérique des protéines totales (g/dl) et du glutathion hépatique (nmol/mg prot) chez les lots expérimentaux.	53
07	la concentration sérique de l'hémoglobine (g /dl) chez les lots expérimentaux.	55

Résumé

Produced with ScanTOPDF

Résumé

L'objectif de notre travail est d'étudier l'impact de l'élément toxique (le plomb) sur certains aspects biochimique, hématologique, et histologique et l'utilisation de la vitamine E pour diminuer ou éliminer cette toxicité chez les lapins de souche cuniculus lepus. Il s'agit d'une étude expérimentale menée au laboratoire sur 16 lapins repartis en quatre lots de quatre lapins chacun, dont le premier est le témoin sain, le deuxième est des lapins injectés par le plomb, le troisième est des lapins injectés par le plomb et traités avec la vitamine E et le quatrième lot est des lapins sains reçoivent la vitamine E.

Après 3 semaines de traitement les lapins sont sacrifiés et le sang est récupéré pour le dosage des différents paramètres biochimiques et hématologiques. Après la dissection le foie est prélevé pour le dosage du glutathion et pour l'étude histologique.

A partir de l'analyse des résultats on observe que le plomb a provoqué une perturbation très claire du métabolisme glucidique, lipidique et protéique traduisant par hyperglycémie, hypercholestérolémie ainsi qu'une augmentation significative de la teneur plasmatique en triglycérides, en urée et en acide urique ceci est accompagné par une diminution de la concentration sérique des protéines totales, cependant l'activité transaminase (TGO, TGP) a été augmentée, de plus le plomb a perturbé le système de détoxification lié au glutathion et l'histologie du foie a montré une fibrose au niveau des hépatocytes, et aussi diminution de la concentration sérique d'hémoglobine (Hb). Par ailleurs, le traitement par la vitamine E a amélioré tous les paramètres biochimiques et hématologiques.

Nous pouvons conclure que la supplémentation de la vitamine E aboutit à la réduction du degré d'intoxication par le plomb et nos résultats, par conséquent, montrent que la vitamine E est un important facteur dans la protection des cellules vis-à-vis l'effet toxique des métaux lourds.

Mots clés : plomb, vitamine E, lapins, paramètres biochimiques, glutathion, hémoglobine, TGO, TGP.

Abstract

This study was carried out to investigate the effect of lead toxicity on certain aspects: biochemical, hematological and histological; and the using of vitamin E treatment to reduce this toxicity among the rabbit cuniculus *Lepus*. It's an experimental study led to the laboratory on 16 rabbits distributed in four groups of four rabbits each, whereas the first is used as a control, the second is rabbits treated by lead of 25 mg/kg, and third group treated by lead/vitamin E, and the last group receiving vitamin E by oral way. After three weeks of treatment, the rabbits are sacrificed and blood samples are recovered to evaluate the different biochemical and hematological parameters. After dissection the liver is collected for glutathione dosage and histological study.

From results analysis we observed that the lead invoked a disturbance of the glucose, lipid and protein metabolism translating by hyperglycemia, hypercholesterolemia and highly meaningful increase of the content plasmatic in triglycerides, in urea and uric acid, with a decreased of the concentration of total proteins. However, the enzymatic activity of the transaminases (TGO, TGP), has been increased. Besides, the lead disrupts the linked detoxification system to the glutathione and the histology of hepatocyte showed a necrosis to level of the hepatocyte and again decreased de the hemoglobin concentration (Hb).

Furthermore, treatment with vitamin E improving all the biochemical and hematological parameters.

In conclusion, we can say that vitamin E supplementation reduced lead toxicity, in other words the vitamin E is an important factor in the protection of cells against the poisonous heavy metals effect.

Key words: lead, vitamin E, rabbits, biochemical parameters, glutathione, hemoglobin, TGO, TGP.

ملخص

من خلال الدراسة الحالية حاولنا معرفة تأثير سمية الرصاص على عدة مظاهر : معايير بيوكيميائية ، معايير دموية ، دراسة تشريحية .

واستعملنا للفيتامين E للتقليل من سمية الرصاص عند أرانب من فصيلة *Cuniculus lepus* حيث تمت هذه الدراسة في المخبر على مجموعة من الأرانب (16 أرنب) مقسمة إلى 4 أفواج ، كل فوج يحوي أربع أرانب حيث الفوج الأول يعتبر كشاهد ، في حين أن الفوج الثاني حقن بالرصاص بتركيز (25 مغ/ كغ) والفوج الثالث حقن بالرصاص ثم تم معالجته بالفيتامين E (100 بتركيز مغ/كغ) أما الفوج الأخير تلقى جرعة يومية من الفيتامين E عن طريق الفم .

بعد ثلاثة اسابيع من العلاج تم نبح و تشريح الأرانب لتقدير مختلف (المعايير بيو كيميائية ،دموية، تشريحية)

من خلال تحليل النتائج لاحظنا أن الأرانب التي حقنت بالرصاص أظهرت اضطرابات في الميتابوليزم السكري البروتيني والليبيدي ، مترجمة بارتفاع نسبة الكوليسترول و كذلك ارتفاع معنوي في الغليسيريدات الثلاثية و البولة ، حمض البولة ويقابلهم انخفاض في تركيز البروتينات الإجمالية و نقص في نشاط ناقلات الأمانة (TGO/TGP) ، بالإضافة إلى ذلك فإن الرصاص أدى إلى تخفيض القدرة على إزالة السموم الكبدية المتعلقة بالغلوتاثيون ، كما أثر على نسبة الهيموغلوبين .

الدراسة التشريحية للكبد بينت حدوث تشوه على مستوى خلايا الكبد .

في حين أن الأرانب التي تمت معالجتهم بالفيتامين E أثبتت تأثيره ايجابي على تحسين كل المعايير التي سبق ذكرها .

وفي الأخير نستنتج أن الفيتامين E يعمل على تخفيض سمية الرصاص، لأنه يعتبر عنصر مهم في حماية الخلية من تأثير سمية المعادن الثقيلة و نتائجا أثبتت ذلك.

كلمات المفتاح

الرصاص، معايير بيوكيميائية، دراسة تشريحية، الأرانب، الهيموغلوبين، الغلوتاثيون، TGO/TGP .

*Table des **Matières***

Produced with ScanTOPDF

Table de matière

Etude bibliographique

Introduction

Chapitre I : Le plomb

1. Définition des métaux lourds.....	1
2. Histoire de l'utilisation du plomb.....	1
3. Définition de plomb.....	2
4. Propriétés physico-chimiques du plomb.....	3
5. Les sources de plomb.....	3
5.1. Sources naturels.....	3
5.2. Sources anthropiques.....	4
6. Différentes utilisations du plomb.....	4
7. Cycle biogéochimique.....	4
8. Propagation et devenir du Plomb dans l'environnement.....	5
9. Les effets toxiques.....	6
9.1. Chez l'homme.....	6
9.2. Chez enfant.....	7
10. Evaluation des risques toxicologiques.....	7
10.1. Toxicité aiguë due au Plomb.....	7
10.2. Toxicité chronique au Plomb.....	7
11. Les différents origines de contamination de l'homme par le plomb.....	7
12. métabolisme.....	8
12.1. Absorption.....	8

Table de matière

12.2. Distribution	8
12.3. Elimination	8
Chapitre : II stress oxydatif	
1. Introduction	9
2. Historique	9
3. Définition du stress oxydatif	9
3.1. Définition des radicaux libres	10
3.2. Principaux radicaux libres et leurs origines	10
3.3 .Les principales cibles cellulaires des radicaux libres	15
4. Définition d'un antioxydant	17
4.1. systèmes de défences antioxydants	17
5. Les maladies liées de stress oxydatif	21
Chapitre III : la vitamine E	
1. Introduction	22
2. Définition des vitamines	22
3 .Classification des vitamines	22
4. Historique de la vitamine E	23
5. Définition de la vitamine E	24
6. Les sources de la vitamine E	24
7. Structure chimique	24
8. Propriétés physico-chimiques	25
9. Propriétés biochimiques et métaboliques	25
10. Action antioxydant de la vitamine E	26
10.1. Métabolisme	26
10.2. Mode d'action et rôle dans la cellule	26
11. Pathologies associées à une carence en vitamine E	27

Table de matière

11.1. Chez l'homme.....	27
11.2. Chez les animaux.....	27
12. Hypervitaminose.....	27
Partie expérimentale	
Matériel et méthodes	
1. Matériel biologiques et condition d'élevages.....	28
2.1 traitement des animaux.....	28
3. prélèvement sanguin.....	28
4. prélèvement des organes.....	29
5. Dosage des paramètres biochimiques.....	31
5.1. Dosage de glucose.....	31
5.2. Dosage du cholestérol.....	32
5.3. Dosage de triglycérides.....	33
5.4. Dosage des protéines dans le sérum.....	35
5.5 Dosage de l'urée.....	36
5.6. Dosage de l'acide urique.....	38
5.7. dosage de l'activité d'aspartate aminotransferase ASAT(TGO) et d'alanine aminotransferase ALT (GPT).....	39
5.8 .dosage de glutathion hépatique (GSH).....	43
5.9 Dosage des protéines hépatiques.....	44
6. Etude histologique.....	45
6.1. Déshydratation.....	46
6.2. Inclusions.....	46

Table de matière

6.3 .Coloration	46
7. Exploration statistique des résultats	47
Résultats	48
Discussion	58
Conclusion et perspective	
Références bibliographique	

Produced with ScanTOPDF

*Synthèse
bibliographiques*

Produced with ScantOPDF

Introduction

Produced with ScanTOPDF

Introduction

L'un des problèmes majeurs de ce siècle est la préservation de la qualité de l'environnement face à la croissance industrielle exceptionnelle et à la pollution engendrée par le développement économique. Le rejet des substances d'origine naturelle ou industrielles constitue l'un des plus importants facteurs de dégradation de la biosphère par l'homme.

L'une des caractéristiques essentielles de la pollution d'origine humaine consiste en la dispersion, volontaire ou non volontaire, de certaines substances (pesticides, hydrocarbures, etc.) ou éléments (métaux) qui sont susceptibles de contaminer divers compartiments de la biosphère y compris dans les endroits très éloignés de leur sites initiales d'émission (Lagadic et al., 1998).

Les métaux lourds sont devenus parmi les nombreux contaminants les plus retrouvés dans notre environnement. Le plomb, le mercure, le cadmium, sont les principaux métaux émis dans l'air par les activités humaines; ces polluants peuvent s'avérer fortement toxiques et détériorer les sols, les eaux, les forêts et les cultures en plus de leurs effets sur l'homme (Chen & Seaton, 1998; Crump, 1999). Ils peuvent affecter le système nerveux, les fonctions rénales, hépatiques et respiratoires (Harber et al., 2000).

Le plomb est l'un des métaux le plus anciennement utilisé par l'homme. Le problème de la contamination de l'environnement par ce métal due à ses propriétés physico-chimiques intéressantes (malléabilité, ductilité, bas point de fusion) et sa facilité d'extraction.

Les effets délétères du plomb sur la santé humaine et animale sont potentiels, lorsque ce métal induit la production d'Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) perturbant le statut redox des cellules. Les radicaux libres peuvent causer des dommages oxydatifs pour les lipides, les protéines et les acides nucléiques et favoriser plusieurs conditions pathologiques (Stengel, 1996).

La lutte contre les radicaux libres fait appel à deux lignes de défense: les enzymes endogènes (Catalase et GpX), et les substances antioxydants proprement dites: la vitamine C, Cuivre, Zinc, Sélénium, la vitamine E qui est important dans la protection contre les radicaux libres.

Notre travail a pour but d'explorer l'impact de plomb sur certains aspects : biochimique, hématologiques et histologique. Chez des lapins de souche «*Cuniculus lepus*», et d'évaluer les effets du traitement par la vitamine E, afin d'établir si cette vitamine peut protéger contre les effets cytotoxiques du plomb.

Ce manuscrit comporte deux parties :

La première partie de ce travail s'attachera à donner quelques rappels bibliographiques sur le plomb, le stress oxydatif et la vitamine E.

La deuxième partie du mémoire présentera les résultats de l'effet de la vitamine E sur la toxicité du plomb chez des lapins de la souche *Cuniculis lepus*.

Produced with ScanTOPDF

Chapitre I

Le Plomb

Produced with Scantopdf

1. Définition des métaux lourds :

Les métaux lourds se présentent dans tous les compartiments de l'environnement, mais en générale en très faible quantité. On dit que les métaux sont présents « en traces », ils sont aussi « la trace » du passé géologique et l'activité de l'homme.

Un métal une matière de plus souvent d'un minerai d'un autre métal. Il est doté d'un éclat particulier, bon conducteur de la chaleur et d'électricité a des caractéristiques de dureté et malléabilité, se combinant ainsi aisément avec d'autres éléments pour former des alliages utilisables dans l'industrie. Leur caractéristique est de masse volumique élevée supérieure à 5 gramme par cm^3 .

Les premiers biochimistes ont distingué ces trois métaux toxiques (plomb, cadmium, mercure). En raison de leur affinité avec le soufre qui permettant d'identifier les protéines « qui précipitent lourdement » ou donnent facilement des sels (sels de mercure, sels de plomb).

En 1969, le chimiste Russe Mendeleïev, classe des éléments chimiques à partir de la masse atomique et de nombre d'électrons des éléments (Grosman et Melet, 2000).

Les métaux lourds sont des polluants engendrés par l'activité humaine qui ont un fort impact toxicologique. Les métaux toxiques sont nombreux, ils ont des impacts sur les végétaux, les produits de consommation courante et sur l'homme (Roux et al., 1993).

2. Histoire de l'utilisation du plomb :

Le plomb a été l'un des premiers métaux utilisés par l'homme dès l'âge du bronze, il y a plus de 7 000 ans, le plomb a été largement utilisé par les Grecs et les Romains comme pigments (oxyde de plomb) ou pour réaliser des canalisations, de la vaisselle, des pièces de monnaie, des toitures...

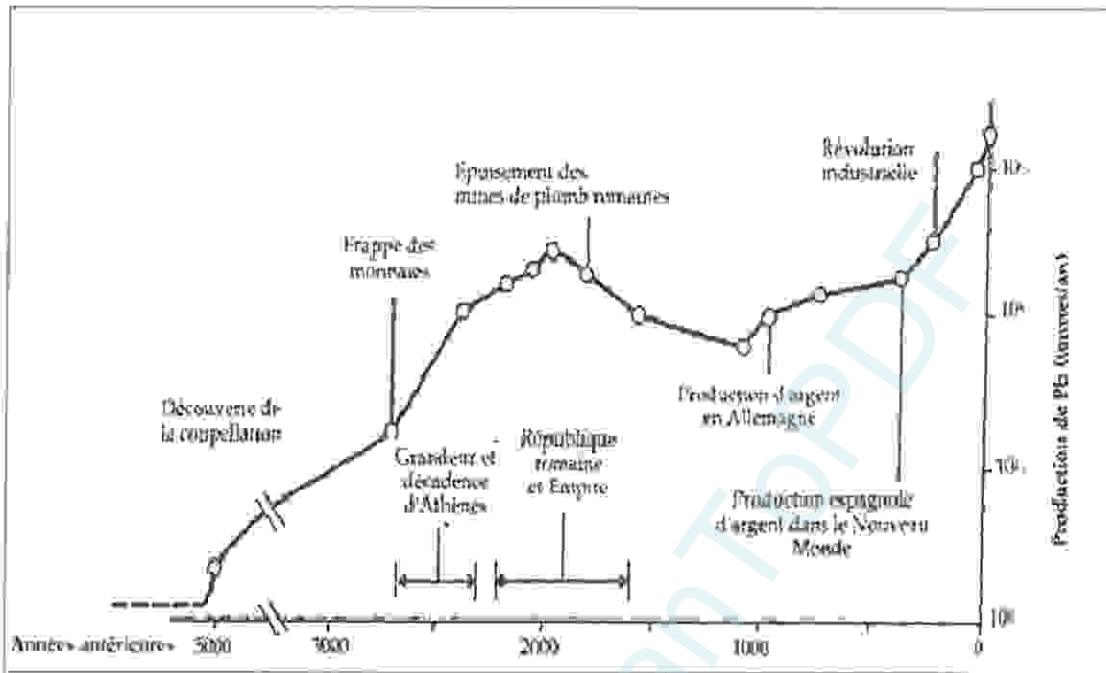


Figure 1: Evolution de la production mondiale de plomb (Settle et Patterson, 1980).

L'utilisation du plomb a ensuite explosé au cours de la révolution industrielle. Pendant la première moitié du XX^{ème} siècle, le plomb a été utilisé dans l'industrie, l'imprimerie et les peintures. Dans la seconde moitié du siècle, l'utilisation dominante était liée aux carburants automobiles (le plomb était ajouté dans l'essence comme antidétonant) puis aux accumulateurs de voitures et industriels.

Depuis les années 1970, le développement de nouvelles technologies, la prise en compte des problèmes environnementaux et de santé publique, ont conduit à la diminution ou à l'arrêt de certaines utilisations du plomb (canalisations, soudure, peinture, pesticides, antidétonant dans l'essence...).

Dans les pays industrialisés, la production secondaire (à partir de la valorisation des déchets) ne cesse de progresser par rapport à la production primaire (à partir de minerai). Environ 72 % de cette production était destinée à la fabrication d'accumulateurs (Ademe, 2006).

3 .Définition de plomb :

Le plomb est connu depuis la haute antiquité .Il vient du latin plumbum, signifiant liquide argenté. C'est une bleuté brillant, très mou, gris, sans goût, et sans odeur, se trouvant habituellement en petite quantité dans la croûte terrestre.

D'autres processus naturels, comme la dégradation et l'érosion du sol et les feux de forêt, contribuent de façon significative à la libération de plomb.

Mais généralement, ces processus naturels ne conduisent que rarement à des concentrations élevées de plomb dans l'environnement (Abidi et al., 2000).

5.2. Sources anthropiques :

Depuis la diminution des essences plombées, les principales sources de plomb

Anthropiques sont :

- ❖ la combustion du charbon.
- ❖ la métallurgie des non ferreux (production de plomb, de nickel et de cuivre, de zinc et de cadmium).
- ❖ la sidérurgie.
- ❖ la production de ciment.
- ❖ l'incinération des déchets (Mothé et al., 1999).

6. Différentes utilisations du plomb :

La présence généralisée du plomb dans l'environnement est essentiellement due aux activités humaines. Cette origine anthropique est multiple car les utilisations passées ou présentes du plomb sont très nombreuses.

- ✓ **Activités métallurgiques :** Elles comprennent la métallurgie de première fusion lors de laquelle le minerai de plomb subit différents traitements afin d'extraire le plomb et les autres métaux. Il existe aussi la métallurgie de 2ème fusion ou recyclage, qui consiste à obtenir du métal par la récupération de déchets contenant du plomb.
- ✓ **Production d'essence au plomb :** Le tétra éthyle de plomb était le principal constituant des agents antidétonants ajoutés à l'essence, pour augmenter le taux d'octanes.
- ✓ **Protection contre les radiations :** Du fait de sa densité importante, le plomb est utilisé pour la protection contre le rayonnement γ . Peintures, pigments, le plomb a également été utilisé comme composante de nombreux pigments en peinture (Brgm, 2004)

7. Cycle biogéochimique

Le plomb contenu dans les roches peut se retrouver dans les sols, par altération de ces dernières, à des teneurs variables selon la composition initiale de la roche mère. De même,

Très malléable et ductile. Il ternit au contact de l'air humide, ne réagit ni avec l'oxygène, ni avec l'eau et il est attaqué par l'acide nitrique. Ses composés sont toxiques par inhalation ou ingestion, les effets sont cumulatifs (Abidi, 1997).

4. Propriétés physico-chimiques du plomb :

Le plomb appartient au groupe IV b de la classification périodique des éléments. Ses principales propriétés physicochimiques sont présentées dans le Tableau 1. De configuration électronique $[\text{Xe}] 4f14 5d10 6s26p2$, il possède deux électrons non appariés sur sa couche électronique externe. Cette configuration électronique autorise les degrés d'oxydation (+2) et (+4), en plus de la forme métal (0).

Le cation Pb^{2+} est un acide au sens de Lewis, c'est-à-dire qu'il est susceptible d'accepter un doublet d'électrons venant d'une base, pour former une liaison covalente. C'est également une espèce chargée, susceptible d'interactions électrostatiques avec des ions de signes contraires pour former une liaison ionique (Sposito et al., 1982).

Tableau 1: Principales propriétés physico-chimiques du plomb.

Les propriétés chimiques de plomb	Les propriétés physiques de plomb
<p>Symbole : Pb</p> <p>Numéro Atomique : 82</p> <p>Masse atomique : 207,2 g.mol⁻¹</p> <p>Configuration électronique : $[\text{Xe}] 4f14 5d10 6s2 6p2$</p>	<p>Point de fusion : 327 °C</p> <p>Point d'ébullition : 1740 °C</p> <p>Densité : 11,35</p> <p>Valence : 0, +2, +4</p> <p>Rayons ioniques :</p> <p>Pb²⁺ 0,94 à 1,49 Å</p> <p>Pb⁴⁺ 0,78 à 0,94 Å</p>

5. Les sources de plomb:

5.1. Sources naturels :

Le plomb est présent dans la croûte terrestre et dans tous les compartiments de la biosphère. Dans l'air, l'émission de plomb provenant de poussières volcaniques véhiculées par le vent sont reconnues d'une importance mineure.

il est présent dans tous les autres compartiments de l'environnement (eaux, air et même les êtres vivants).

La localisation ou la forme chimique du plomb dans l'environnement peut varier selon des phénomènes naturels ou par l'intervention de l'homme. Il existe donc un véritable cycle biogéochimique du plomb (tout comme il existe un cycle pour les éléments majeurs et les autres éléments traces) (Lamand et al., 1991).

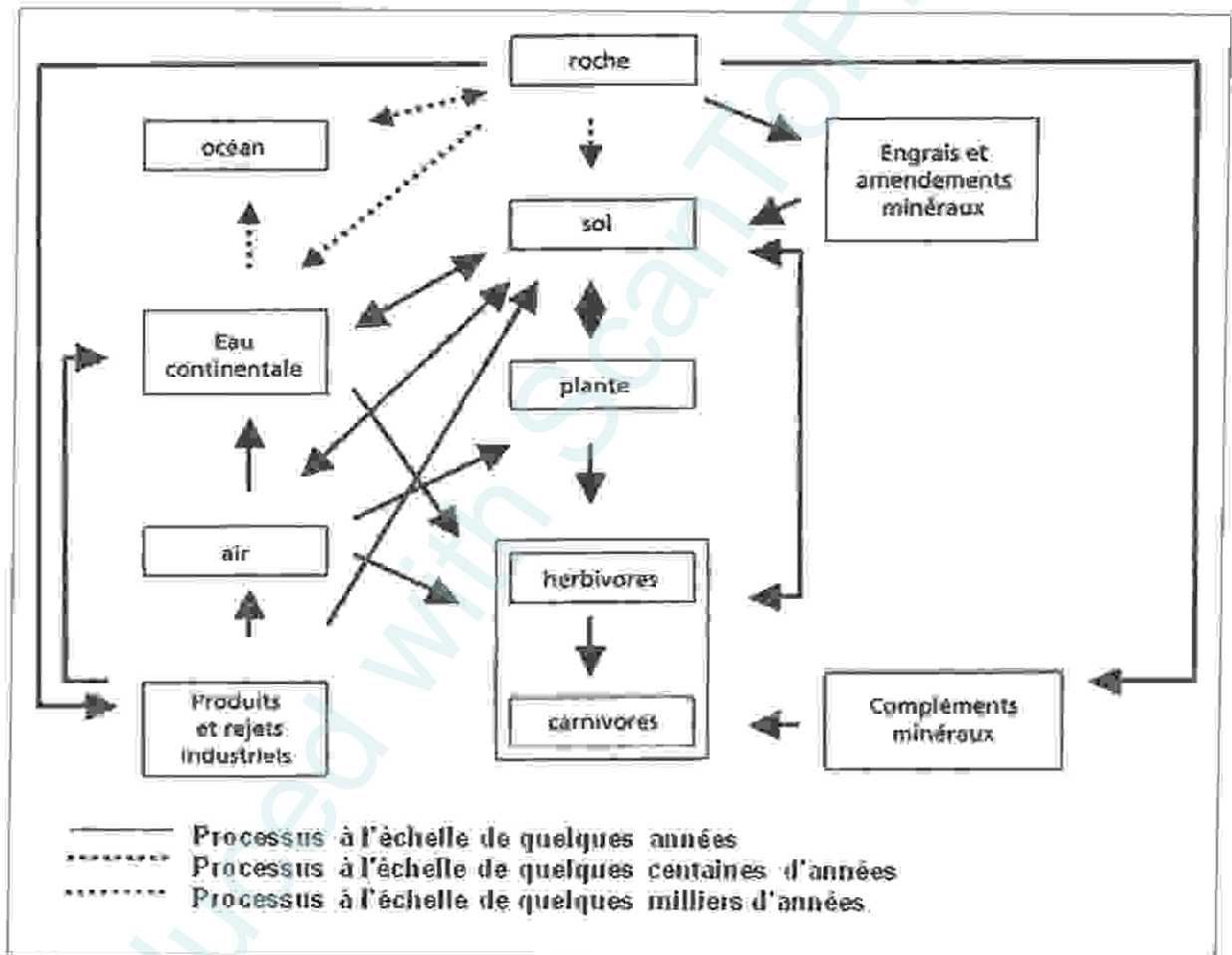


Figure 2: Cycle biogéochimique des éléments (Lamand et al., 1991).

8. Propagation et devenir du Plomb dans l'environnement :

En grande partie le plomb est insoluble dans l'eau, c'est généralement un constituant mineur de l'eau de surface et de l'eau souterraine. Il tend à être absorbé par les particules de sol et par la substance organique, principalement près des sources de plomb.

En outre, la faible solubilité du plomb dans l'eau, rend son "absorption" par les plantes

généralement restreinte.

En raison de ces propriétés, l'élimination des principales sources ponctuelles de contamination par le plomb pourrait permettre de réduire immédiatement les concentrations de plomb dans l'eau et chez les organismes proches de ces sources.

Le plomb libéré dans l'atmosphère est une source majeure de contamination environnementale. Une fois déposé sur le sol et les plantes ainsi que dans les eaux de surface, il peut s'introduire dans la chaîne alimentaire.

Les particules de plomb peuvent être transportées sur des distances considérables dans l'atmosphère, parfois jusqu'à des milliers de kilomètres de leur source, avant d'être déposées via les précipitations (Abidi, 2000).

9. Les effets toxiques :

9.1. Chez l'homme :

Le plomb se diffuse rapidement vers les différents organes comme le cerveau, les dents, les os, par la circulation sanguine. La demi-vie du plomb dans les tissus mous et dans le sang est de 30 jours environ, mais elle passe de 1 à 10 ans dans les os. En général, le plomb dans le corps humain se répartit comme suit :

- 1 à 2 % dans le sang
- 5 à 10 % dans les tissus mous (rein, foie, rate)
- Plus de 90 % est fixé sur les os

L'élimination du plomb se fait majoritairement par les urines, puis par les fèces, la salive et la sueur, et enfin par les ongles et les cheveux. Le plomb a de nombreux effets toxiques sur la santé, qui sont basés sur les niveaux de plomb dans le sang ou plombémie sanguine.

En effet, il est responsable du saturnisme en cas d'exposition chronique. Il peut provoquer une grande fatigue, des troubles du comportement, de la mémoire, du sommeil, des systèmes immunitaires et reproducteurs, mais ses principaux organes cibles sont le système nerveux, les reins et le sang. En bloquant plusieurs enzymes nécessaires à la synthèse de l'hémoglobine, il entraîne une diminution du nombre de globules rouges est une anémie.

De plus, le plomb passe facilement la barrière placentaire par diffusion, d'où un risque d'exposition prénatale (Hammond et al., 1993).

12. métabolisme :

12.1. Absorption :

Le plomb inorganique est absorbé par les poumons et le tractus gastro-intestinal l'absorption cutanée est généralement faible. Chez l'homme adulte, le plomb est mieux absorbé par les poumons que par le tractus gastro-intestinal.

L'absorption pulmonaire dépend notamment de la taille des particules chargées en plomb ; seul une partie des particules de diamètre moyen supérieur à $0.5\mu\text{m}$ est retenue dans les poumons, la rétention des particules de diamètre inférieur à $0.5\mu\text{m}$ est inversement proportionnel à leur taille, chez animal comme chez l'homme (Marrow, 1980).

12.2. Distribution :

A l'état d'équilibre, le plomb sanguin ne représente que 1 à 2 % de la quantité présente dans l'organisme. Les tissus mous en contiennent 5 à 10% : c'est la plus grande partie du plomb biologiquement actif. Plus de 90 % (75% chez l'enfant) de la dose interne de plomb sont osseux. Le plomb lié à l'os compact ne produit pas d'effet toxique et ses mouvements sont très lents.

Cependant, il peut être libéré massivement en cas de déminéralisation étendue (corticothérapie prolongée, ostéoporose, tumeur osseuse, immobilisation prolongée) ; de même, le pool de plomb biologiquement actif augmente pendant la grossesse et l'allaitement. Le plomb franchit aisément la barrière placentaire ; à la naissance, les plombémies de la mère et de l'enfant sont peu différentes (Sumino et al., 1975).

12.3. Elimination :

L'excrétion du plomb est principalement urinaire (> 75 %) et fécale (15-20 %). Il existe aussi une excrétion lactée, mais elle est faible. A l'arrêt de l'exposition, la décroissance de la plombémie est lente : la demi-vie d'élimination est d'abord de 30-40 jours ; après quelques mois, elle est supérieure à 10 ans. Elle est très augmentée en cas d'insuffisance rénale (Laurewy, 1983).

Chapitre II

Stress Oxydatif

Produced with Scantopdf

1. Introduction :

Le métabolisme cellulaire normal de l'oxygène produit de manière continue de faibles quantités de dérivés de l'oxygène. Le rôle physiologique de cette production basal 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 (Fontaine, 1998).

2. Historique :

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 cellulaire, « Oxydatif » signifie qu'il 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 (Fontaine, 1998).

Depuis le début du 20^{ème} siècle, les chimistes ont étudié les antioxydants, caractérisés par leur capacité à s'oxyder à la place d'autres molécules. Leur impact sur la santé n'a été étudié par les biologistes que dans les années 60 grâce aux travaux effectués sur les vitamines.

Le rôle des antioxydants comme agents protecteurs vis-à-vis des cancers a été beaucoup étudié, tant sur leurs mécanismes d'action, l'identification de leurs cibles, que leurs interactions moléculaires (Mebdi, 2008).

3. Définition du stress oxydatif :

Le stress oxydatif (ou oxydant) a été défini par Sies en 1997 comme une perturbation de la balance entre le pro oxydants et les antioxydants, en faveur des premiers, conduisant à des dommages potentiels. Le stress oxydatif est la conséquence de :

- la diminution du niveau des antioxydants.
- l'augmentation de la production réactive d'oxygène d'espèce (ERO).

Dans chacune de nos cellules l'oxygène que respirons libère de grandes quantités de molécules très réactives que l'on appelle dérivés actifs de l'oxygène (ROS Réactive Oxygène Species) et aux espèces réactives oxygénées et azotées (RONS, N pour nitrogène) les premiers « radicaux libres » que notre organisme doit combattre (Fontaine, 1998).

3.1. Définition des radicaux libre :

La majeure partie de la toxicité de l'oxygène provient de la formation des radicaux libres (RL) (Bonnefont et al., 2003).

Un radical libre se définit comme un groupe d'atomes ou molécules possédant un électron non apparié sur l'orbitale externe. Cette caractéristique lui confère une réactivité importante : les radicaux libres réagissent avec des molécules plus stables pour capter ou céder leur électron, créant ainsi de nouveaux radicaux en initiant des réactions en cascade, dans certaines conditions de l'oxygène (O_2) sont incomplètes et abouties à la formation des radicaux libres (Carolinie, 2003).

Hyperproduction des radicaux libres sont à la base des explications physio-pathologiques des grandes maladies dites neurodégénératives : sclérose en plaques, maladie de Parkinson, maladie d'Alzheimer et vieillissement cérébral (Meludi, 2008).

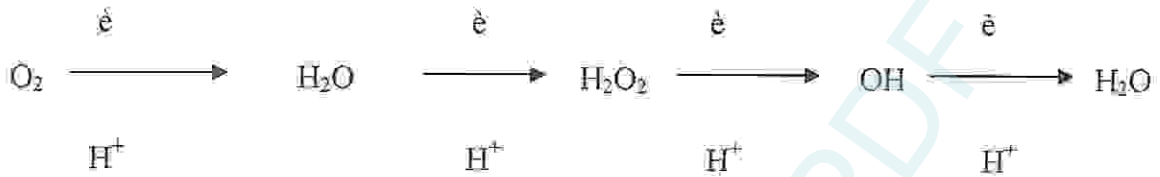
3.2. Principaux radicaux libres et leurs origines :

Plusieurs initiateurs de processus transmettent par les radicaux libres comme la peroxydation lipidique, la destruction oxydative des protéines et l'ADN, les dommages cellulaires, sont aujourd'hui bien connus. Parmi ces initiateurs, les radicaux libres, les métaux de transition, les polluants, les médicaments, les produits alimentaires, les radiations (Denisov et Afanas., 2005). Ils produisent tous des radicaux libres, comme le super oxyde (O_2^-), l'hydroxyle (OH), le per hydroxyle et le monoxyde d'azote (NO).

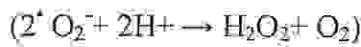
➤ L'anion super oxyde (O_2^-) :

L'anion super oxyde est une forme réduite de l'oxygène moléculaire généré par la capture d'un électron. Il s'agit d'un radical libre initial formé dans la chaîne respiratoire mitochondriale.

La mitochondrie génère l'énergie utilisant 4 électrons dans la chaîne réactionnelle, réduisant l'oxygène en eau. Quelques électrons échappés la chaîne réactionnelle de la mitochondrie réagissent directement avec l'oxygène et forment les anions superoxyde (Harman, 2000).



L'anion superoxyde (O_2^-) joue un rôle important dans la formation des espèces réactives de l'oxygène comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyle ($\text{OH} \cdot$), ou l'oxygène singlet (O).



L'anion superoxyde peut réagir avec le monoxyde d'azote (NO) pour former le peroxynitrite (ONOO^-), qui peut générer des composés toxiques comme le radical hydroxyle ($\text{OH} \cdot$) et le dioxyde d'azote (Halliwell et al., 1997).



➤ Le radical hydroxyle ($\text{OH} \cdot$) :

Le radical hydroxyle ($\text{OH} \cdot$) est le radical libre le plus réactif et peut être formé à partir de l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène en présence des ions métalliques comme le cuivre ou le fer.



En général, les composés aromatiques ou les composés comportant des liaisons multiples carbone-carbone subissent des réactions d'addition en présence des radicaux libres hydroxylés. Dans les composés saturés, un radical hydroxyle capte un atome d'hydrogène de la liaison carbone-hydrogène la plus faible pour donner un radical libre.

Les radicaux libres néoformés peuvent réagir avec les lipides, les polypeptides, les protéines et l'ADN, spécialement la thiamine et la guanosine (Ashok et Ali, 1999).

Les radicaux hydroxyles se lient également facilement aux doubles liaisons.

La barrière énergétique de l'addition des radicaux hydroxyles aux doubles liaisons est plus faible que l'abstraction d'un atome d'hydrogène, ce qui favorise l'addition en cas de compétition. Quand un radical hydroxyle réagit avec les composés aromatiques, il peut s'additionner par l'intermédiaire de la double liaison conduisant au radical hydroxycyclohexadiényle. Celui-ci peut subir d'autres réactions, comme celle avec l'oxygène, qui est le radical peroxy, ou se décompose en radical de type phénoxy par élimination d'eau.

➤ Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) :

Le peroxyde d'hydrogène peut générer à travers une réaction de dismutation, l'anion superoxyde par l'intermédiaire du superoxyde dismutase.

Les enzymes comme l'acide oxydase et la xanthine oxydase produisent aussi H₂O₂ à partir de l'anion superoxyde.

H₂O₂ diffuse facilement à travers la membrane plasmique. C'est la molécule la moins réactive parmi les espèces réactives de l'oxygène. Elle est stable à des pH et des températures physiologiques, en absence d'ions métalliques. Le peroxyde d'hydrogène peut générer le radical hydroxyle en présence d'ions métalliques et l'anion superoxyde (Halliwell, 1997),



Le peroxyde d'hydrogène peut produire l'oxygène singlet par réaction avec l'anion superoxyde ou avec l'acide hypochlorique (HOCl) ou les chloramines dans les êtres vivants. Il peut ainsi dégrader certains hèmes des protéines, comme l'hémoglobine, pour libérer les ions de fer (Stief, 2003).

➤ L'oxygène singlet (O[·]) :

L'équipe de Takayama (2003) a rapporté que les phosphatidylcholines hydroperoxydes Méta-stables présentes dans les organismes vivants produisent de l'oxygène singlet durant leur dégradation en présence du Cu²⁺ à l'obscurité. Il peut être formé à partir du peroxyde d'hydrogène qui réagit avec l'anion superoxyde, avec HOCl ou les chloramines dans les cellules et les tissus.

Par comparaison avec les autres espèces réactives de l'oxygène, l'oxygène singlet est plutôt faible et non toxique pour les tissus des mammifères. Cependant, il a été montré qu'il est impliqué dans l'oxydation du cholestérol.

L'oxydation et la dégradation du cholestérol par l'oxygène singlet est en effet accélérée par la coprésence d'esters des acides gras méthylés (Stief, 2003).

➤ Les radicaux peroxyes et alcoxyles :

Les radicaux peroxyes (ROO^\bullet) sont formés par réaction directe de l'oxygène avec des Radicaux alkylés (R^\bullet), mettant en jeu par exemple, la réaction entre les radicaux lipidiques et l'oxygène. La décomposition des peroxydes alkylés (ROOH) conduit aux radicaux peroxyes (ROO^\bullet) et alcoxyles (RO^\bullet).

L'irradiation par des rayons UV ou la présence de métaux de transition peut causer l'homolyse des peroxydes pour produire les radicaux peroxye et alcoxyle.



Les radicaux peroxyes et alcoxyles sont de bons agents oxydants, ayant plus de 1000 mV de potentiel réducteur standard. Ils peuvent capturer un atome d'hydrogène de molécules ayant un potentiel réducteur standard plus faible. Cette réaction est fréquemment observée dans l'étape de propagation de la peroxydation lipidique.

Très souvent le radical alkyle formé de cette réaction peut réagir avec l'oxygène pour former un autre radical peroxye résultant de la chaîne réactionnelle. Des radicaux peroxyes se dégradent pour libérer l'anion superoxyde ou peuvent réagir entre eux pour générer l'oxygène singlet (Mehdi, 2008).

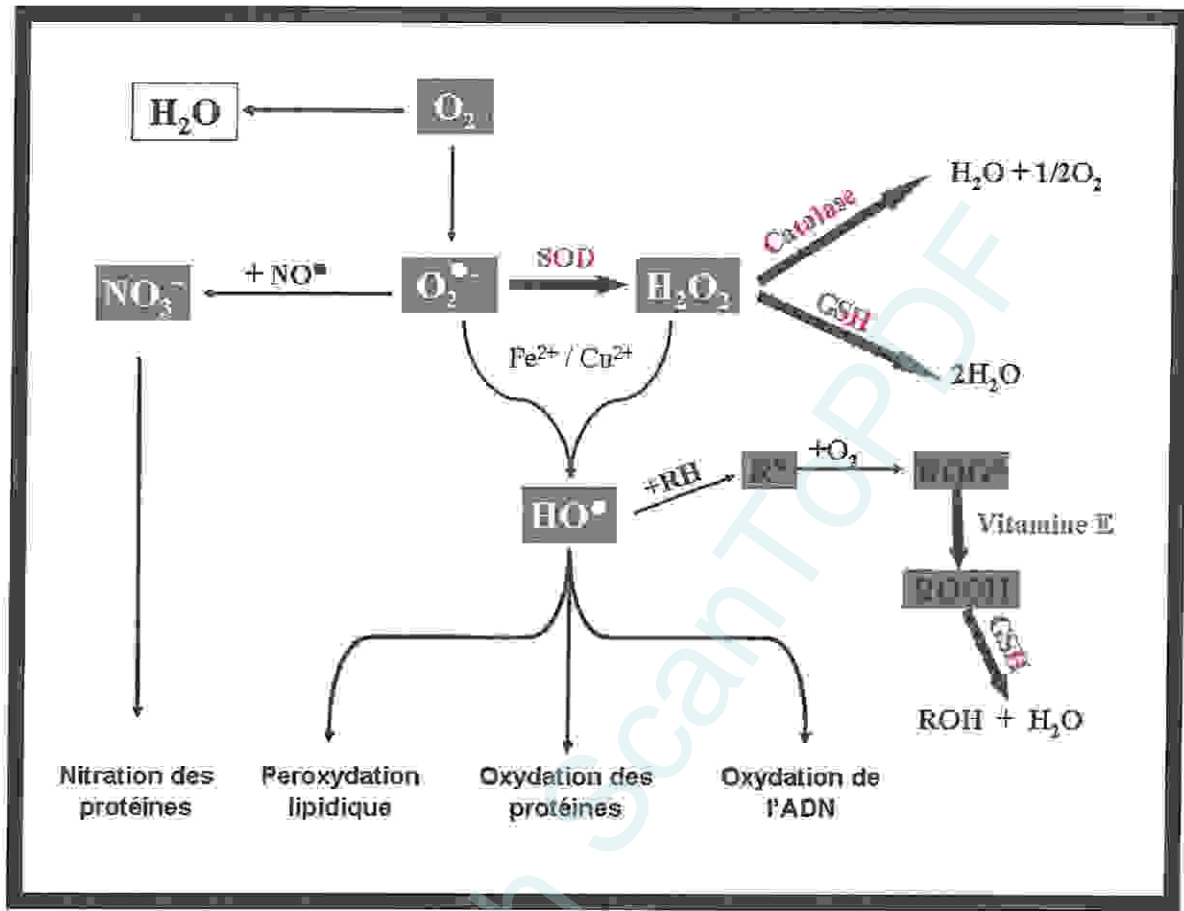


Figure 3 : Les principaux radicaux libres et les mécanismes de détoxication.

➤ Le monoxyde d'azote et le dioxyde d'azote :

Le monoxyde d'azote (NO^\bullet) est un radical libre avec un électron apparié. Il est formé à partir de L-arginine par la NO synthétase (Fang et al., 2000).

L'oxyde d'azote est un radical qui n'est pas très réactif, mais la production excessive du NO^\bullet est impliquée dans la reperfusion ischémique, et les maladies inflammatoires chroniques et neurodégénératives comme l'arthrite rhumatoïde et l'inflammation du colon. L'oxyde d'azote dans le plasma humain peut consommer les concentrations d'acide ascorbique et d'acide urique, et initier la peroxydation lipidique (Halliwell, 1996).

➤ L'anion peroxynitrite (OONO^-) :

Le monoxyde d'azote peut réagir avec l'anion superoxyde pour générer du peroxynitrite.



L'anion peroxynitrite est une espèce cytotoxique qui cause des lésions tissulaires et oxyde les lipoprotéines à faible densité (Halliwell, 1997).

L'anion peroxynitrite apparaît être un radical libre important qui cause des dommages tissulaires générés sur les sites d'inflammation (Papas, 1999).

Il est impliqué dans les désordres neurodégénératifs ainsi que plusieurs affections rénales.

Le peroxynitrite (OONO^-) peut causer la modification et l'oxydation des protéines, les bases d'ADN mimant le rôle oxydant du radical hydroxyle. Son rôle comme oxydant biologique provient de sa grande capacité de diffusion à travers les membranes cellulaires. La nitrotyrosine, qui peut être formée à partir de réactions de l'anion peroxynitrite avec les acides aminés, a été trouvée dans les tissus associés à l'âge (knight, 1999).

3.3. Les principales cibles cellulaires des radicaux libres sont :

➤ Les macromolécules :

Les RL sont également responsables d'inactivation enzymatique en particulier des sérine-protéases, d'une fragmentation des macromolécules (collagène, protéoglycanes, acide hyaluronique), de formation de dimères ou d'agrégats protéiniques dans les membranes cytoplasmiques. Les acides aminés les plus sensibles à leur action sont le tryptophane, la tyrosine, la phénylalanine, la méthionine et la cystéine (Mehdi, 2008).

➤ Les lipides :

Ils sont une cible privilégiée des RL qui provoquent l'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) des phospholipides membranaires. Le phénomène d'auto oxydation ou peroxydation lipidique consiste en l'attaque par un RL, d'origine exogène ou endogène, de dérivés lipidiques.

Le radical formé ($\text{R}\cdot$) subit un réarrangement interne, dû à une tautomérie liée au déplacement de la double liaison la plus proche de l'électron célibataire. En présence d'oxygène, il se forme un radical peroxyde ($\text{ROO}\cdot$) qui déstabilise une deuxième molécule d'AGPI et conduit à un hydroperoxyde lipidique (ROOH) et à un nouveau radical ($\text{R}\cdot$). Cette auto-oxydation se propage et s'amplifie d'un acide gras à l'autre (Mehdi, 2008).

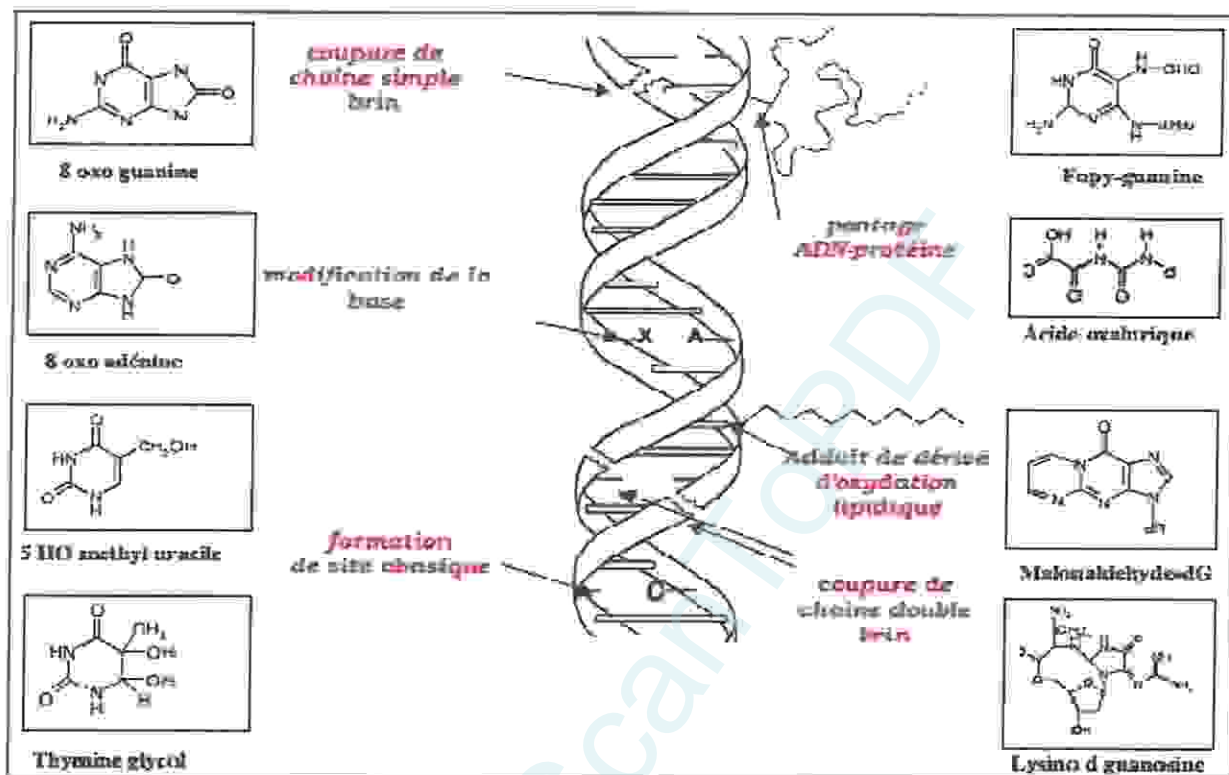


Figure 5 : Lésions de l'ADN formées suite à un stress oxydatif (Favier, 2003).

4. Définition d'un antioxydant :

Les antioxydants sont des substances endogènes ou exogènes capables de neutraliser ou réduire les dommages causés par les radicaux libres également dans plusieurs aliments, les principaux antioxydants sont les vitamines C et E, sélénium (Maameri, 2008).

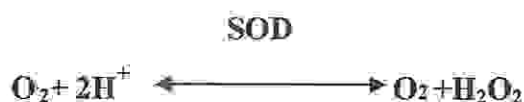
4.1. Systèmes de défenses antioxydants:

L'organisme est doté d'un ensemble de systèmes de défenses très efficaces contre la surproduction d'ERO. Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (Delattre et al., 2005).

4.1.1. Système antioxydant enzymatique :

➤ Les superoxydes dismutases (SOD) :

Les superoxydes dismutases (SOD) sont des métallo-enzymes qui catalysent la dismutation des ions peroxydes en oxygènes moléculaires et peroxydes d'hydrogènes composés stables et moins toxiques selon 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 glutathion peroxydases. Chez les mammifères, on distingue dans cette famille trois isoenzymes qui catalysent la même réaction mais diffèrent selon la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire.

Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au centre de l'enzyme dont la nature permettra de distinguer la SOD à cuivre-zinc présent dans le cytoplasme (cCu-ZnSOD), la SOD à manganèse (MnSOD) présent dans les mitochondries, et une SOD extracellulaire c'est une SOD à cuivre-zinc (Delattre et al., 2005).

➤ La catalase :

La catalase est une enzyme héminique capable de transformer le peroxyde d'hydrogène (généralement produit par les SOD) en eau et oxygène moléculaire. Elle est essentiellement présente dans les peroxysomes, mais aussi dans les mitochondries et SOD la réaction catalysée par cette enzyme est une dismutation du peroxyde d'hydrogène.



La catalase est une enzyme tétramérique, chaque sous unité comporte un groupement Ferriprotorphyrine dans son site actif avec un atome de fer à l'état Fe_3 et une molécule de NADPH. La fixation du NADPH par la catalase lui confère une protection contre l'attaque de l' H_2O_2 . La catalase et la glutathion peroxydase ont des rôles protecteurs similaires et leur contribution relative est assez variable. La catalase est surtout active lorsque le niveau de stress oxydatif est élevé ou que la quantité de glutathion peroxydase est limitée et elle joue un rôle significatif en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier (Delattre et al., 2005).

➤ Les glutathions peroxydases :

Les glutathions peroxydases (GPx) constituent une famille d'enzymes capables de réduire des composés hydroperoxydes en leurs composés hydroxyles correspondants en utilisant du glutathion ou des agents réducteurs équivalents comme Co-substrats. Il existe des GPx avec ou sans résidu sélénio-cystéine dans leur site actif mais les plus courantes sont celles possédant une sélénio-cystéine. L'ensemble des GPx sélénio-cystéine catalysent la réduction des hydroperoxydes minéraux ou organique en eau et en alcool lipidique respectivement, tandis que le glutathion réduit (GSH) est transformé en glutathion oxydé (GSSG).

Toutes ces enzymes contiennent dans leurs sous-unités un à quatre atomes de sélénium selon l'isoenzymes (Delattre et al., 2005).

Tableau 2 : Les enzymes anti-oxydantes.

Enzymes	Fonction
Superoxyde dismutase	Élimination du superoxyde
Catalase	Élimination de l'hydroperoxyde
Glutathion peroxydase	Élimination de l'hydroperoxyde
Glutathion disulfideréductase	Réduction de la glutathione oxydée
Glutathion-S-transférase	Élimination de l'hydroperoxyde lipidique
Méthionine sulfoxyderéductase	Réparation des résidus méthionine oxydés
Peroxydase	Décomposition du peroxyde d'hydrogène et du lipide hydroperoxyde

4.1.2. Les antioxydants endogènes non enzymatiques :

La production physiologique d'ERO, est régulée par des systèmes de défense composés d'enzymes (SOD, CAT, hème oxygénase, peroxyrédoxine...), de molécules antioxydants de petite taille (glutathion, ...) et de protéines (Transferrine, ferritine, ...).

Enfin, un système secondaire de défense composé de phospholipases, d'ADN endonucléases, de ligases et de macroxyprotéinases empêche l'accumulation dans la cellule de lipides, d'ADN et des protéines oxydés et participe à l'élimination de leurs fragments toxiques (Mehdi, 2008).

4.1.3 .Les antioxydants exogènes :

Toutes ces défenses peuvent être renforcées par des apports exogènes en :

➤ **Médicaments :**

Ils constituent une source importante d'antioxydants. Actuellement, les classes thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens.

Les antihyperlipoprotéïnémiques, les bêta-bloquants et autres antihypertenseurs ont été évalués pour leurs propriétés anti-oxydantes.

❖ **Antioxydants naturels :**

➤ **La vitamine C ou acide ascorbique :**

Son action est très controversée quant à son effet protecteur ou activateur face à la toxicité de l'oxygène. Selon le pH, la vitamine C peut prendre une forme réduite ou oxydée. Le passage de l'une à l'autre se fait par l'intermédiaire d'un radical libre, le radical ascorbyle, et en présence de glutathion/glutathion-réductase.

La vitamine C forme donc un couple redox avec une forme intermédiaire radicalaire capable de capter l'oxygène singulet et certaines espèces radicalaires. C'est ainsi qu'elle protégerait la peau de la toxicité induite par les rayonnements UV mais, à forte concentration, la vitamine C peut se comporter comme un oxydant générateur de radicaux libres (Mehdi, 2008).

➤ **La vitamine E ou tocophérol :**

Le terme générique de vitamine E désigne en fait une famille constituée des tocophérols et tocotriénols, la forme la plus active étant l' α -tocophérol. Cette vitamine est décrite comme étant le principal antioxydant liposoluble dans le plasma et les érythrocytes chez l'homme, situé dans les lipoprotéines et dans les membranes, l' α -tocophérol est capable, d'une part, de piéger chimiquement l'oxygène singulet (1O_2) en s'oxydant en quinone, d'autre part, de réagir avec le radical hydroxyle (OH). Mais son principal rôle biologique est de réagir avec les radicaux peroxydes (ROO^{\cdot}) pour former un radical tocophéryle. L' α -tocophérol est

régénéré essentiellement selon deux voies ; d'une part, la vitamine C, ou l'acide ascorbique, est capable de réduire le radical tocophéryle, d'autre part, une enzyme spécifique, glutathion dépendante, la tocophéryl réductase, est capable de réduire le radical tocophéryle en α -tocophérol. Parallèlement, le glutathion à l'état réduit (GSH) est oxydé en glutathion oxydé (GSSG). Ce métabolisme implique la participation de la vitamine B2, cofacteur de la glutathion réductase, nécessaire à la régénération du GSH après son oxydation par le radical tocophéryle (Delattre et al., 2005).

➤ Le sélénium :

Les effets bénéfiques de cet oligo-élément sur l'organisme ne sont connus que de puis un quart de siècle. Il neutralise les métaux toxiques (plomb, mercure). Il aurait aussi une action préventive sur certains cancers (Diallo, 2005).

5. Les maladies liées au stress oxydatif :

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses anti-oxydantes et augmente la production mitochondriale des radicaux. En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur-exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré.

Le stress oxydant est aussi l'un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier, 2003).

Chapitre III

La vitamine E

Produced with Scantopdf

1. Introduction :

Les vitamines sont des substances qui n'apportent pas d'énergie mais qui sont indispensables à l'organisme, incapable dans la plupart des cas de les synthétiser. Elles doivent donc être apportées par l'alimentation. Une alimentation suffisante en quantité et variée, comprenant des aliments d'origine animale (viande, œufs, poisson, produits laitiers) et des céréales, des fruits et légumes, permet un apport satisfaisant en vitamines. Elles jouent un rôle capital dans le maintien d'une bonne forme physique (développement, croissance, réactions chimiques et bon fonctionnement des différents organes de l'organisme). (Laroche et al., 2003).

Le sportif a besoin d'un apport complémentaire en vitamines. De plus, les vitamines sont fragiles et résistent peu à la chaleur, à la lumière, à l'oxydation, à la dessiccation. Une carence ou un excès de certaines vitamines peut être préjudiciable à la santé, il est préférable de demander l'avis à un médecin en cas de doute. Pour certaines personnes, il est nécessaire d'augmenter la posologie habituelle de certaines vitamines (Laroche et al., 2003).

2. Définition des vitamines :

Le mot « vitamine » vient de la contraction de deux mots : « vitale » signifie la vie « amine » signifie la molécule organique. Le nom « amine vitale » a été utilisé, la première fois, par les chercheurs Casimir Funk et Sir Frédéric Gowland Hopkins en 1912. On peut définir les vitamines comme des biocatalyseurs fournis par l'alimentation à l'organisme en très petite quantité et de façon continue pour permettre le fonctionnement normal des organes. Les besoins quotidiens en vitamines ne sont que de quelques fractions de microgramme à quelques milligrammes. Ceci est dû au fait que la plupart agissent comme des coenzymes ou des cofacteurs au cours des réactions enzymatiques.

Les vitamines doivent être apportées en faible quantité dans l'alimentation (Kazi, 1990).

3. Classification des vitamines :

Les vitamines sont classées selon leur critère de solubilité :

- **Les vitamines hydrosolubles** : solubles dans l'eau, tout excès est immédiatement excrété principalement dans l'urine. Quelques cas de toxicité ont néanmoins été décrits, comme la

vitamine

C,

B₁,

B₂

- **Les vitamines liposolubles** : solubles dans les graisses, elles sont stockées dans l'organisme et une ingestion excessive peut-être toxique, comme vitamine A, D, K, E (kazi, 1990).

4. Historique de la vitamine E :

En 1922 : l'embryologiste Herbert Evans et son assistante Katherine Bishop, de l'Université de Californie à Berkeley, constatent que chez des rats soumis à un régime appauvri en lipides, les femelles peuvent tomber enceintes mais aucun fœtus ne se développe. Cependant, les grossesses arrivent à terme quand le régime est supplémenté avec des feuilles de laitue ou du germe de blé. Les deux scientifiques soupçonnent l'existence d'un composé lipophile, qu'ils nomment Facteur X, indispensable au développement du fœtus.

En 1924 : indépendamment des recherches de H. Evans et K. Bishop, Bennett Sure, de l'Université de l'Arkansas, montre qu'un composé retiré d'un régime alimentaire induit la stérilité chez les rats mâles. Bennett Sure nomme ce composé vitamine E. Elle reçoit aussi le nom de tocophérol, du grec tokos: progéniture et pherein: porter. H. Evans et Oliver Emmerich réussissent à isoler la vitamine E à partir de l'huile germe de blé.

En 1936 : Evans et Bernhiz déterminent la structure de la vitamine E

En 1938 : Paul Karrer réalise la synthèse de l'alpha-tocophérol racémique.

En 1968 : La commission sur les denrées alimentaire et la nutrition du conseil national de recherche des Etats –unis reconnaît enfin la vitamine E en tant qu'élément nutritif essentiel pour l'être humain. Les circonstances de la découverte de la vitamine E lui ont valu dans le grand public une réputation de vitamine de la fertilité, voire de la puissance sexuelle. Historiquement, la vitamine E reste tout de même la vitamine de la reproduction (volhardt et schore, 1999).

5. Définition de la vitamine E :

La vitamine E est une substance organique sans valeur énergétique propre qui est nécessaire à l'organisme. Grâce à ses propriétés biochimiques et métaboliques, elle peut être utilisée dans l'industrie agroalimentaire en tant qu'additif alimentaire (Claude,2003).

La vitamine E est un antioxydant permettant à l'organisme de lutter contre le stress oxydatif, en particulier la peroxydation lipidique (Cuvelier, 2003).

6. Les sources de la vitamine E :

Les tocophérols sont largement répandus dans les produits naturels d'origine végétale ou animale. Les sources alimentaires les plus riches en vitamine E sont les céréales (seigle, blé, Avoine...) dont leurs germes, les fruits (bananes, fraise, melon...), la plupart des oléagineux, dont leurs huiles (tournesol, soja, maïs, olive, arachide...). On trouve de la vitamine E dans les légumes à feuilles (salade, épinard, chou, poireau), dans la graisse animale ainsi que dans le lait, le beurre et le fromage et également dans le poisson (Jean et al., 2002).

7. Structure chimique :

La vitamine E existe sous huit formes, quatre tocophérols et quatre tocotriénols. Les tocophérols sont des substances constituées par un noyau hydroxychromane et une chaîne latérale saturée phytyle à 16 carbones. Le nombre et la position des groupements méthyle sur le noyau hydroxychromane définissent les différentes formes de tocophérols et tocotriénols.

La forme la plus active est l' α -tocophérol que l'on rencontre le plus fréquemment dans la nature. Les β et γ tocophérols ont une activité vitaminique réduite (respectivement 40 et 15 % environ de l'activité de la forme α , alors que le δ est pratiquement inactif.

Les tocotriénols se distinguent des tocophérols par la présence de trois doubles liaisons sur la chaîne latérale. Deux de ces produits possèdent également une certaine activité vitaminique, environ 20% pour l' α -tocotriénols et 5% pour le β -tocotriénols. Les autres sont inactifs (Claude, 2003).

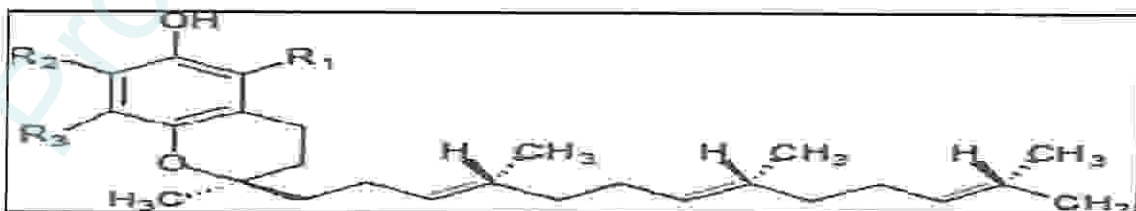


Figure 6: Structure du tocotriénols. (Cuvelier, 2003).

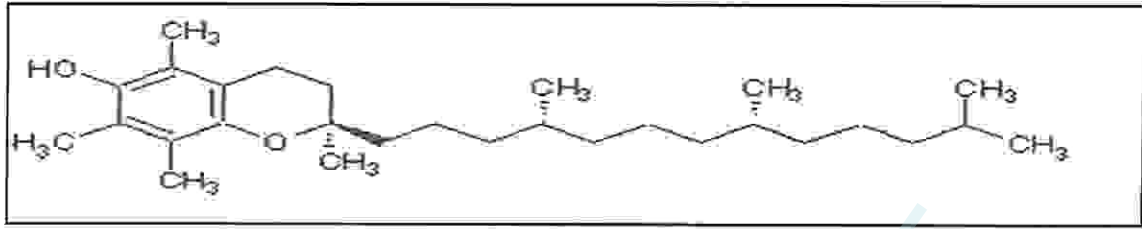


Figure 7: Structure du tocophérol. (Cuvelier, 2003).

8. Propriétés physico-chimiques :

Tous les tocophérols se présentent, à la température ambiante, sous la forme d'une huile visqueuse de coloration jaune pâle. Ils sont insolubles dans l'eau, très solubles dans les graisses, les huiles et les solvants organiques (éthers, acétone, chloroforme, méthanol, alcools méthyliques et éthyliques). Ils sont peu sensibles à la chaleur, à la lumière et aux acides, mais très sensibles à l'oxydation et aux bases.

Les esters de tocophérols et notamment l'acétate de dl- α -tocophérol sont relativement stables. (Cuvelier, 2003).

9. Propriétés biochimiques et métaboliques :

La fonction naturelle de la vitamine E est d'être antioxydant. Grâce à ce rôle, elle assure la protection des membranes cellulaires et prévient le durcissement des cellules. Elle aide également à maintenir la santé du système immunitaire en protégeant la vie des globules rouges dans la circulation sanguine (Clandó, 2003).

❖ Protection des membranes cellulaires :

La vitamine E aide à protéger les membranes cellulaires : les acides gras insaturés, insolubles dans l'eau, servent à la constitution de la structure interne des parois de chaque cellule de l'organisme et des membranes des organes internes. Elle ralentit le vieillissement cutané en protégeant les membranes cellulaires. Sa présence permet la conservation de l'intégrité de ces acides gras, très sensibles à l'oxydation. Grâce à sa longue chaîne lipidique, la vitamine E se fixe au sein des membranes lipidiques, et c'est sa fonction phénolique qui est responsable de son activité antioxydant. D'où les affections et les allergies qui peuvent résulter d'une carence en vitamine E.

En protégeant les membranes cellulaires, la vitamine E aide le foie à détoxifier l'organisme sans lésions hépatiques. En inhibant la formation de radicaux au niveau de la cellule, la vitamine E protège également les constituants cellulaires comme les protéines et

les acides nucléiques. Elle peut aussi améliorer certaines néphrites ou maladies des reins, ce qui se manifeste par la disparition du sang et de l'albumine des urines des malades, ainsi qu'une diminution de la rétention d'eau et de la tension artérielle (Jean, 1989).

10. Action antioxydant de la vitamine E :

La vitamine E va stopper l'oxydation des acides gras en s'oxydant à leur place. C'est la réaction qui nécessite le moins d'énergie qui se fera préférentiellement. La vitamine E intervient surtout au stade de l'initiation, en cédant un de ses atomes d'hydrogène au radical peroxyde qui se stabilise et devient non réactif. Cela permet ainsi d'arrêter les réactions en chaîne (Jean et al., 2002).

10.1.Métabolisme :

Chez les mammifères, la vitamine E doit être apportée par l'alimentation, soit sous forme libre (vitamine E naturelle contenue dans les végétaux) soit sous forme estérifiée (vitamine E de synthèse). Elle est absorbée avec les graisses grâce aux sels biliaires et à la lipase pancréatique. Elle est transportée par les chylomicrons des vaisseaux lymphatiques à la circulation générale.

L'absorption intestinale est de 35 à 80%. Dans le plasma, 40 à 60% de la vitamine est transporté par les LDL, et environ 35% par les HDL. Elle est stockée dans le foie, les muscles et dans le tissu adipeux (Higgins et al., 2008).

10. 2. Mode d'action et rôle dans la cellule :

La vitamine E fait partie des systèmes de défense de l'organisme contre le phénomène de «stress oxydatif». La vitamine E fait partie des systèmes de défense non enzymatiques, qui protègent les phospholipides membranaires contre les réactions en chaîne de peroxydation.

Elle inactive les formes réactives de l'oxygène par captation de l'électron non apparié. La vitamine E est un donneur d'hydrogène par l'intermédiaire notamment du radical OH. L' α -tocophérol réagit avec les peroxydes lipidiques pour former des hydroperoxydes et de transformer alors en quinone. L' α -tocophérol agit en synergie avec d'autres systèmes antioxydants comme le glutathion pour décomposer les hydroperoxydes (Pauline, 2010).

11. Pathologies associées à une carence en vitamine E :

11.1 Chez l'homme :

La vitamine E chez l'homme a un rôle antioxydant. Elle pourrait ainsi avoir un rôle dans la prévention de l'athérosclérose, en luttant contre l'oxydation des LDL. Par ailleurs elle inhibe l'agrégation plaquettaire. Elle a aussi un rôle immunomodulateur: elle stimule la production des lymphocytes, diminue les prostaglandines E2 et les hydroperoxydes sériques immunodépresseurs. Dans l'espèce humaine, lors de carence, on observe des syndromes différents selon l'âge du patient. Chez le prématuré, on observe un syndrome hémolytique lors de faibles réserves du fœtus à la naissance.

En effet, chez le prématuré: l'absorption digestive est faible pendant les trois premiers mois et la teneur en vitamine E du lait maternel est faible (Munnich et al., 1987).

11.2 Chez les animaux :

Un manque de vitamine E peut être dangereux chez les animaux, en effet ses conséquences sont multiples, tout d'abord, atteinte sur le muscle est de loin et le plus fréquents et grave. Elle caractérise par la dégénérescence des muscles squelettiques et de systèmes nerveux, les reproducteur et cardiovasculaire. sont touchées est aussi une dégénérescence de l'épithélium germinale des testicules avec perturbation de la spermatogenèse. Les jeunes animaux est le plus concernées, car comme l'homme leurs réserves en vitamine E est plus faible. C'est pourquoi la nourriture animale est le marché le plus importante pour cette vitamine; environ de 75% de production mondiale de vitamine E est utilisée en tant qu'additif dans la nourriture animale (Hand et al., 2000).

12. Hypervitaminose :

La vitamine E, comme le bêta-carotène, la vitamine C et la plupart des vitamines, est atoxique, même à forte dose prise de manière prolongée. Il n'existe pas d'effets connus dus à une surdose de vitamine E, toutefois une prise excessive de cette vitamine peut entraîner quelques désagrémentstels que:

- Troubles gastro-intestinaux.
- Maux de tête (Scott et sheffey, 1987).

Partie Expérimentale

Produced with ScanTOPDF

Matériel et Méthodes

Produced with ScanTOPDF

1. Matériel biologique et conditions d'élevages :

Notre étude a été réalisée sur un échantillon de 16 lapins de population locale, de souche *Cuniculus lepus* provenant de la région de Guelma durant de mois mars, âgés de (2-4 mois) et pesants 1000- 1500 g.

Les animaux sont élevés dans des cages ferreux, tapissées de carton changé quotidiennement, ces cages sont nettoyées par l'utilisation de détergents comme l'eau de javel pour éviter les infections. Signalons que l'élevage des lapins a été effectué au niveau de l'animalerie du département de biologie (université de Guelma). Ces lapins sont acclimatés aux conditions de notre animalerie pendant 3 semaines à une température ambiante et une photopériode naturelle. La nourriture a été bien équilibrée et variée, elle contient tous les éléments nécessaires pour la croissance naturelle des animaux. Après la période d'adaptation, on répartit les lapins en 04 groupes (4 lapin chacun),

2. traitement des animaux :

- Lot 1 :4 lapins sains témoin.
- Lot 2 : 4 lapins injectés par l'acétate de plomb avec une dose quotidienne de 25 mg /kg .
- Lot 3 :4 lapins injectés par l'acétate de plomb et traités avec la vitamine E à la dose de 100 mg/kg.
- Lot 4 :4 lapins sains reçoivent la vitamine E.

Le traitement par la vitamine E a été effectué par gavage (voie orale), chaque jour avec une dose de 100 mg /kg de poids pendant 21 jours.

3. prélèvement sanguin :

Les prélèvements sanguins se font par sacrifice à la fin du traitement. Les échantillons sanguins sont recueillis dans des tubes EDTA pour le dosage de l'hémoglobine et des tubes héparinés pour les dosages biochimiques, ces derniers sont centrifugés à 3000 tr /minute pendant 15 minute .Le sérum est séparé en trois fractions dans des tubes Eppendorf, puis mis à (-20), jusqu'au moment du dosage.

4. prélèvement des organes :

Après la dissection, le foie est prélevé, débarrassé de son tissu adipeux, rincé dans une solution de chlorure de sodium (Na Cl) à 0.9 %. Un fragment du foie est conservé au congélateur à (-20C°) pour le dosage du glutathion et des protéines hépatiques. Un deuxième fragment du foie est mis dans le Bouin alcoolique pour l'étude histologique.

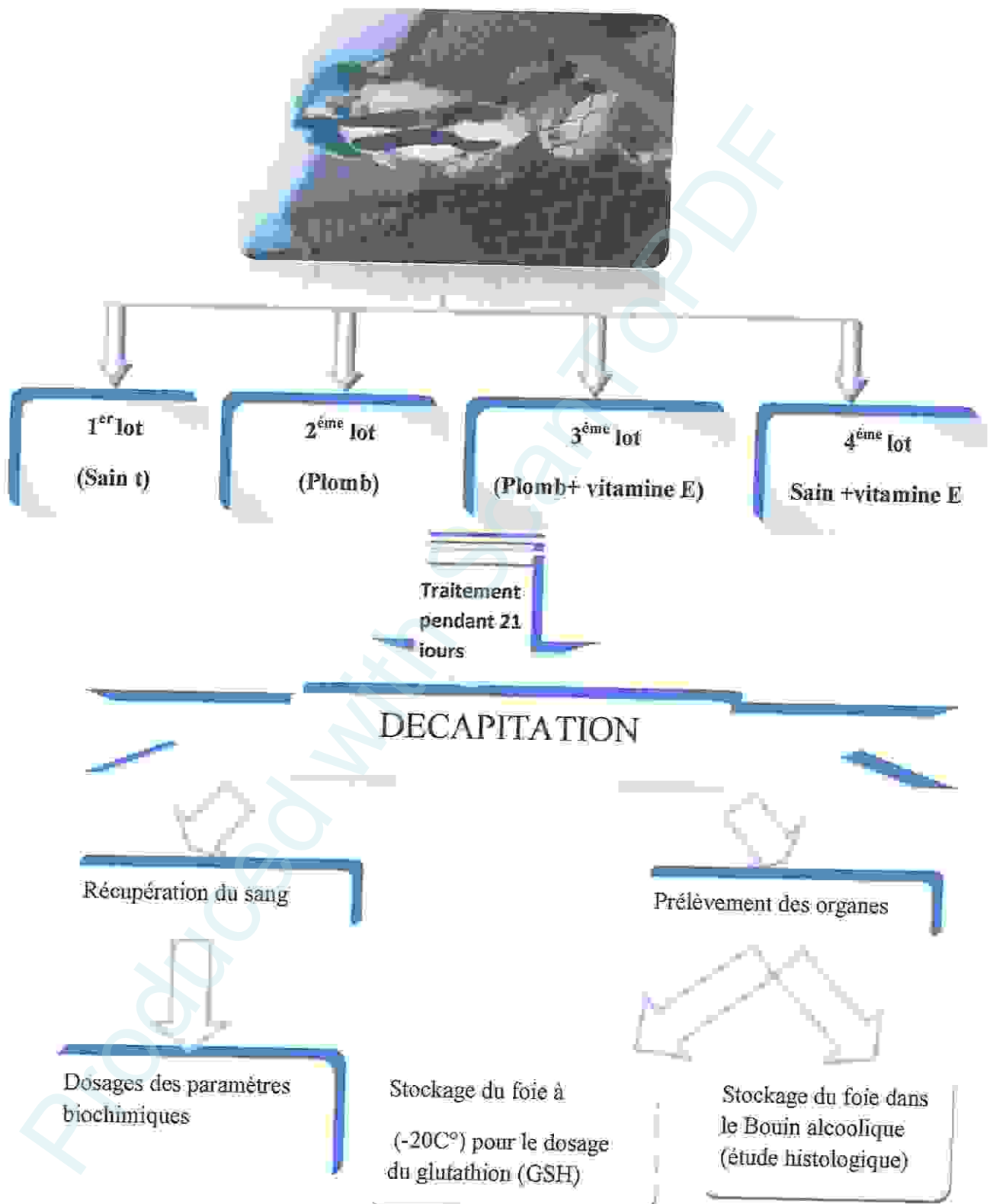


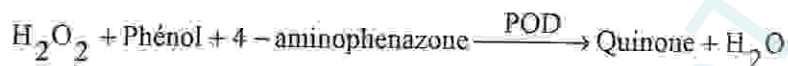
Figure 8 : schéma récapitulatif du protocole expérimental

5. Dosage des paramètres biochimiques :

5.1. Dosage du glucose : (Kaplan, 1984) selon la fiche technique Spinréact

❖ Principe :

Le glucose est mesuré après une oxydation enzymatique en présence du glucose oxydase et la peroxydase, selon la réaction suivante :



- **Echantillon : Sérum.**
- **Les réactifs utilisés:**

Les réactifs	Composition	Concentration
Reactif (R1)	-tris PH =7.4	92mmol/l
Reactif (R2)	-Phénol	0.3 mmol/l
Reactif (R3)	-Glucose oxydase (GOD)	15000 U/l
Reactif (R4)	Peroxydase (POD)	1000 U/l
Reactif (R5)	-4- Aminophénazone (4-AP)	2.6 mmol /l
Reactif (R6)	-solution de glucose	100 mg/dl

❖ Préparation de réactif de travail (RT) :

- ✓ Dissoudre le contenu de réactif (R₂) dans la fiole de réactif (R₁).
- ✓ Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable un mois à 2-8 C° ou 7 jours à 15-25 C°.

❖ Mode opératoire :

Reactif	Volume	Reactif	Volume	Reactif	Volume
R1	1 ml	R2	1 ml	R3	1 ml
R4	-----	R5	10 µl	R6	-----
R7	-----	R8	-----	R9	10 µl

- ✓ Agiter bien et incubé pendant 10 min à 37 C° ou 15 -20min à 25 C°.
- ✓ Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon et de standard à 505 nm contre le blanc, la couleur est stable pendant 30 min.

❖ **Calcul :**

La concentration du glucose dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

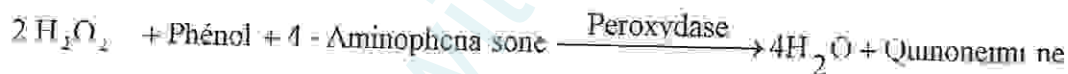
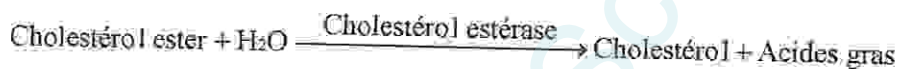
$$\text{Glucose (mg/dl)} = \frac{(A) \text{ échantillon}}{(A) \text{ étalon}} \times 100$$

La concentration d'étalon = 100 mg/l.

5.2. Dosage du cholestérol :(Naito, 1984) selon la fiche technique Spinréact

❖ **Principe :**

Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe coloré selon la réaction suivante :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon.

- **Echantillon : sérum.**
- **Les réactifs utilisent :**

Les réactifs	Concentration	Concentration
Réactif (R1)	-pipes PH=6.9	90 mmol/l
Tampon	-phénol	26 mmol/l
Réactif (R2)	-cholestérol estérase.	300 U/l
(enzymes)	-cholestérol oxydase.	300 U/l
	-peroxydase	1250 U/l
	-4-aminophénasone (4-AP)	0.4 mmol/l
étalon	-Cholestérol aqueux primaire standardisé.	200 mg/dl

❖ **Préparation du réactif de travail (RT) :**

- ✓ dissoudre le contenu de réactif (R₂) dans la fiole de réactif (R₁).
- ✓ Mélanger (RT) est stable pendant 4 mois à 2-8 C° ou 40 jours à 15-25 C°.

❖ **Mode opératoire :**

	Etalon	Echantillon	Blanc
Sérum	1 ml	1 ml	1 ml
Réactif	-----	10 µl	-----
Lechantillon	-----	-----	10 µl

- ✓ Mélanger et incuber les tubes pendant 5 min à 37 C° ou 10 min à 15 -25 C°.
- ✓ Lire l'absorbance (A) de l'échantillon et de l'étalon à 505 nm contre le blanc.

La couleur est stable pendant 2 heures.

❖ **Calcul :**

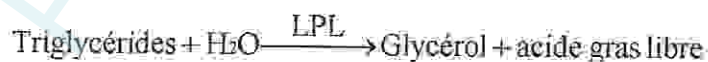
$$\text{Cholestérol (mg/dl)} = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times 200$$

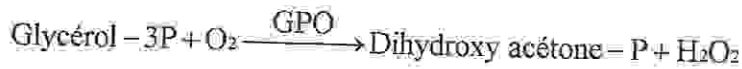
La concentration d'étalon = 200mg/dl.

5. 3. Dosage des triglycérides : (Buccolo et al., 1973) selon les fiche technique Spinreact

✓ **Principe :**

Les triglycérides sont enzymatiquement hydrolysés en glycérol et en acide gras libres par lipoprotéines -lipase (LPL). Le glycérol sous l'effet de glycérol kinase forme de glycérol -3- phosphate (GTP) qu'est oxydé en H₂O₂. Ce dernier forme avec le 4 - aminophénasone et le p-chlorophénoI en présence de peroxydase un complexe rouge, selon les quatre réactions suivantes :





L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans l'échantillon.

- **Echantillon : sérum.**
- **Les réactifs utilisés :**

Les réactifs	Composition	Concentration
Sérum (10 µl)	-GOOD PH =7,5	50 mmol/l
Reactif (R ₁)	-P-cholestérol	2 mmol/l
Reactif (R ₂)	-lipoprotéine lipase (LPL)	150000 U/l
Reactif (R ₃)	-Glycérol kinase (GK)	500 U/l
Reactif (R ₄)	-Glycérol-3-oxydase (GPO)	2500 U/l
Reactif (R ₅)	Peroxydase (POD)	440 U/l
Reactif (R ₆)	-4-aminophénol(4-AP)	0.1 mmol/l
Reactif (R ₇)	-ATP	0.1 mmol/l
Standard	Triglycéride aqueux primaire standardise	200 mg/dl

❖ **Préparation de réactif de travail (RT) :**

- ✓ Dissoudre le contenu de réactif (R₂) dans la fiole de réactif(R₁).
- ✓ Mélanger bien et doucement la solution jusqu'à ce qu'elle devient homogène.

Ce réactif (RT) est stable pendant 6 semaines à 2-8 C° ou une semaine à 15-25 C°.

❖ **Mode opératoire :**

	Blanc	Etalon	Echantillon
Sérum (10 µl)	1 ml	1 ml	1 ml
Reactif	-----	10 µl	-----
Echantillon	-----	-----	10 µl

- ✓ Mélanger et incuber les tubes pendant 5 min à 37 C° ou 10 min à 15-25 C°.
- ✓ Lire l'absorbance (A) de l'échantillon et de l'étalon à 505 nm contre le blanc.

Contribution à l'étude de l'effet de la vitamine E sur la toxicité de plomb

❖ Calcul :

$$\text{Triglycérides (mg/dl)} = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times 200$$

5.4. Dosage des protéines dans le sérum : (Burtis et al.,1999) selon la fiche technique Spinréact :

❖ Principe :

Les protéines du sérum forment dans un milieu alcalin avec les ions de cuivre, un complexe coloré en bleu violet.

L'intensité de la couleur violette est proportionnelle à la quantité des protéines présentées dans l'échantillon.



- Echantillon :
- Les réactifs utilisés :

Les réactifs	Composition	La concentration
réactif (R)	-sodium potassium tartrate. -sodium iodique. -potassium iodique. -sulfate de cuivre	15 mmol/l 100 mmol/l 5 mmol/l 19 mmol/l
Etalon	-sérum bovin albumine	7 g/dl

❖ Mode opératoire :

	Échantillon	Etalon	Réactif (R)
Échantillon (E)	1 ml	1 ml	1 ml
Etalon	-----	25 µl	-----
réactif (R)	-----	-----	25 µl

- ✓ Mélanger et incuber les tubes pendant 5 min à 37 C° ou 10 min à 15 -25 C°.
- ✓ Lire l'absorbance (A) de l'échantillon et l'étalon à 540 nm contre le blanc.

La couleur est stable pendant 30 min.

❖ **Calcul :**

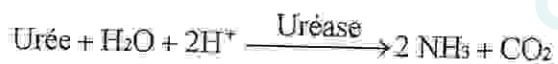
$$\text{Protéines (g/dl)} = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times 7$$

La concentration d'étalon = 7 g/dl .

5.5 Dosage de l'urée : (Kaplan, 1984) selon la fiche technique Spinréact

❖ **Principe:**

L'urée est hydrolysée enzymatiquement en ammonium (NH₃) et dioxyde de carbone (CO₂) selon la réaction suivante :



Les ions ammoniums formés réagissent avec α- cétoglutarate dans une réaction catalysée par glutamate déshydrogénase (GLDH) avec oxydation simultanée de NADH à NAD.



La baisse dans la concentration de NADH, est proportionnelle à la quantité d'urée présentée dans l'échantillon.

❖ **Echantillon :** Sérum

❖ **Les réactifs utilisés :**

Composé	Composition	Concentration
Tris	-tris pH= 7.8	80 mmol/l
α-cétoglutarate	-α- cétoglutarate.	6 mmol/l
Uréase	-Uréase.	3750 U/l
glutamate déshydrogénase (GLDH)	-glutamate déshydrogénase (GLDH).	6000 U/l
NADH	-NADH	0.32 U/l
Urée	-Urée aqueux primaire standardise.	50 mg/dl

❖ **Préparation de réactif de travail (RT):**

- ✓ Dissoudre le contenu de réactif (R₂) dans la fiole de réactif (R₁).
 - ✓ Mélanger bien et doucement la solution jusqu'à la dissolution complète.
- Le réactif (RT) est stable pendant 6 semaines à 2-8 °C ou 7 jours à 15-25 °C.

❖ **Mode opératoire :**

Composé	Echantillon	Etalon	Calibration
Urée	1 ml	1 ml	1 ml
Uréase	-----	10 µl	-----
glutamate déshydrogénase (GLDH)	-----	-----	10 µl

- ✓ Mélanger et lire l'absorbance (A) de l'échantillon et de l'étalon à 340 nm contre le blanc après 30 s (A₁) et après 90 s (A₂).
- ✓ Calculer: $\Delta A = A_1 - A_2$

❖ **Calcul:**

$$\text{Urée (mg / dl)} = \frac{(\Delta A) \text{ Echantillon}}{(\Delta A) \text{ Etalon}} \times 50$$

La concentration d'étalon = 50 mg/dl.

5.6. Dosage de l'acide urique :(schultz, 1984) selon la fiche technique Spinréact

❖ Principe :

L'acide urique est oxydé par uricase a allantoine et eau oxygénée ($2H_2O_2$) qui sous l'influence de peroxydase (POD), 4-Aminophenase (4-AP) et le 2-4 dichlorophenolsulfonate (DCPS) forme un complexe rouge (Quinoneimine).



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de l'acide urique dans l'échantillon.

- **Échantillon : sérum.**
- **Les réactifs utilisés :**

Les réactifs	Composition	Concentration
Réactif (R ₁) Réactif	-phosphate PH =7.4 -2-4 Dechlorophenolsulfonate (DCPS)	50 mmol/l 4 mmol/l
Réactif (R ₂) Réactif	-Uricase -peroxydase (POD) -Ascrobateoxydase. -4-aminophenase (4-AP)	60 U/l 660 U/l 200 U/l 1 mmol/l
Étalon	-acide urique aqueux primaire standardise	6 mg/dl

❖ Préparation de réactif de travail (RT) :

- ✓ Dissoudre le contenu de réactif (R₂) dans la fiole de réactif (R₁).
- ✓ Mélanger bien et doucement la solution jusqu'à ce qu'elle devient homogène.

Ce réactif (RT) est stable pendant un mois à 2-8 C° ou 10 jours à 15-25 C°.

❖ **Mode opératoire :**

	Etalon	Echantillon	Contrôle
Réactif (RT)	1 ml	1 ml	1 ml
Echantillon	-----	25 µl	-----
Contrôle	-----	-----	25 µl

- ✓ Mélange et incuber les tubes pendant 5 min à 37 C° ou 10 min à 15-25 C°.
- ✓ Lire l'absorbance (A) de l'échantillon et de l'étalon à 520 nm contre le blanc.
- ✓ La couleur est stable pendant 30 min.

❖ **Calcul :**

$$\text{Acide urique (mg / dl)} = \frac{(A) \text{ Echantillon}}{(A) \text{ Etalon}} \times 6$$

Concentration de l'étalon = 6 mg /dl.

5.7. dosage de l'activité d'aspartateaminotransférase ASAT(TGO) et d'alanine aminotransférase ALT (GPT) : (Murray,1984) , selon la fiche technique Spinréact .

❖ **Principe :**

La transaminase TGO et TGP présentes dans le sérum catalysent le transfert du groupement amine du glutamate vers l'oxaloacétate et le pyruvate dans des réactions réversibles. L'activité de ces enzymes est proportionnelle à la quantité du pyruvate ou l'oxaloacétate formée après une réaction avec 2,4- dinitrophénylhydrazine (DNPH) dans un milieu alcalin.

- Echantillon : sérum.
- Les réactifs utilisés :

Nom réactif	Contenance	Concentration
DL-Aspartate	-DL-aspartate.	100 mmol/l
DL-Aspartate	-α-cetoglutarate.	2 mmol/l
DL-Alanine	-DL-alanine.	200 mmol/l
DL-Alanine	-α-cetoglutarate	2 mmol/l
DNPH	-2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH).	1 mmol/l
Etalon	-Etalon de pyruvique.	1.2 mmol/l
NaOH	-hydroxyde de sodium	0.4 N

❖ Mode opératoire :

	Sérum	Etalon
DL-Aspartate	0,5 ml	-----
DL-Alanine	-----	0,5 ml

- ✓ Mélanger et incuber les tubes pendant 5 min à 37 C°, ensuite ajouter:

Réactif	100 µl	100 µl

- ✓ Mélanger et retourner les tubes au bain marie.

Réactif	0,5 ml	0,5 ml

- ✓ Mélanger et incuber les tubes pendant 20 min à 15- 25 C°.

Volume de l'échantillon	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml
-------------------------	--------	--------	--------	--------	--------	--------

- ✓ Mélanger et incuber pendant 5 min à 15- 25 C°.
- ✓ Lire l'absorbance (A) de l'échantillon à 505 nm contre l'eau distillée. la couleur est stable pendant une heure.

❖ Calcul

Les absorbances (A) obtenues sont rapportées sur la courbe d'étalonnage.

❖ Courbe d'étalonnage :

Tube	1	2	3	4	5	6
Volume de l'échantillon	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml
Volume de l'eau distillée	1 ml	0,9 ml	0,8 ml	0,7 ml	0,6 ml	0,5 ml
Volume de l'étalon	0,0 ml	0,1 ml	0,2 ml	0,3 ml	0,4 ml	0,5 ml
Volume de l'eau distillée	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml

- ✓ Mélanger et incuber les tubes pendant 20 min à 15-25°C.

Volume de l'échantillon	0,1 ml	0,2 ml	0,3 ml	0,4 ml	0,5 ml	0,6 ml
-------------------------	--------	--------	--------	--------	--------	--------

- ✓ Mélanger et incuber pendant 20 min.
- ✓ Lire l'absorbance (A) à 505 nm contre l'eau distillée.

Volume de l'échantillon	0,1 ml	0,2 ml	0,3 ml	0,4 ml	0,5 ml	0,6 ml
Volume de l'eau distillée	0,9 ml	0,8 ml	0,7 ml	0,6 ml	0,5 ml	0,4 ml

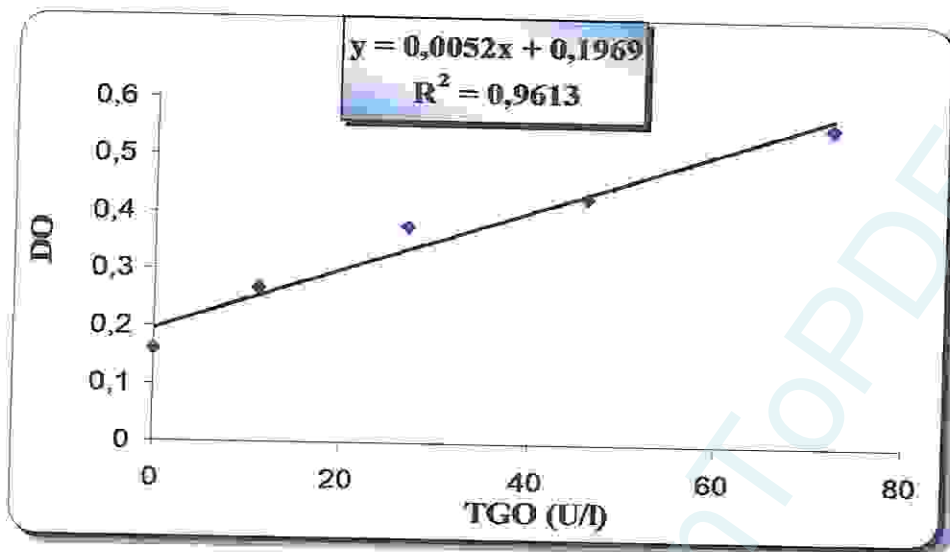


Figure 9 : La courbe d'étalonnage de l'Aspartate Aminotransferase (ASAT/TGO).

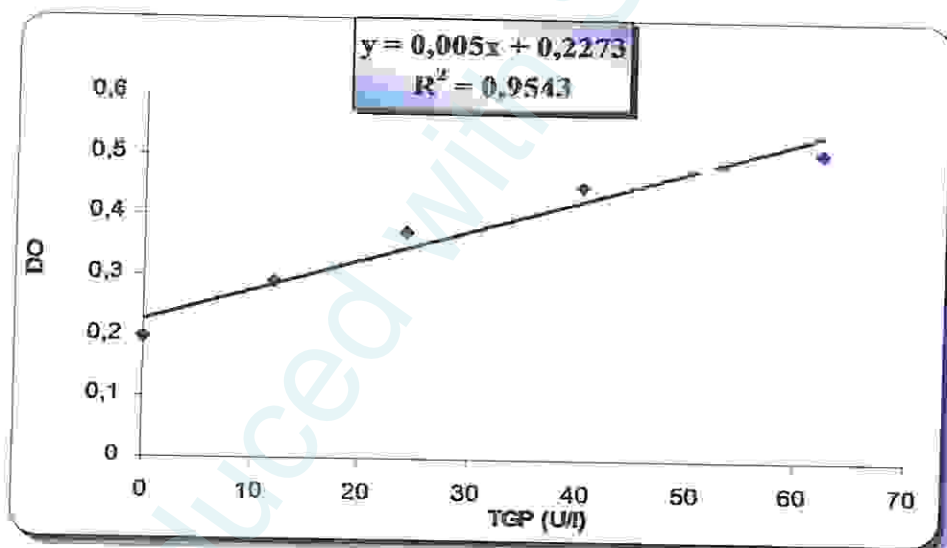


Figure 10 : La courbe d'étalonnage de l'Alanine Aminotransferase (ALAT/GPT).

5.8 .dosage de glutathion hépatique(GSH) : (Weakberker et al.,1988).

❖ Principe :

Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5 mercapturique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis -2 -nitrobenzonique(réactif d'Ellman) par groupement (-SH) du glutathion.

Une foie préparé, l'homogénat doit subir une déprotéinisation (par acide sulfosalysilique 0.25 %) afin de protéger les groupements (-SH) du glutathion.

❖ Echantillon : foie.

❖ Les réactifs utilisés et leur préparation :

- Tampon (Tris -EDTA) pH=9,6

Dissoudre 12.114g de tris (0.4 M) et 1.8612g d'EDTA (0.02) dans 250ml d'eau distillée.

- Solution d'acide sulfosalysilique 0,25 % :

Dissoudre 0.25 g de la poudre dans 100 ml d'eau distillée.

- Solution de DTNB (0.01M) :

Dissoudre 79mg de la poudre dans 20 ml de méthanol absolu 99%.

- Solution EDTA (0.02 M) :

Dissoudre 1.8612g de la poudre dans 250 ml d'eau distillée.

➤ Protocole expérimental :

Les échantillons (250 mg de foie de chaque animal) sont mis individuellement en présence de 10 ml de solution EDTA (acide éthylène diamine tétra acétique) à 0.02 M.

Le mélange mis dans des glaçons est broyé à l'ultrason (sonifier B-30)pendant 35 secondes.

- ✓ Prélever 0.8 ml de l'homogénat.
- ✓ Ajouter 0.2 ml d'une solution d'acide sulfosalysilique (SSA) 0.25 5%.
- ✓ Agiter et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- ✓ Centrifuger à 1000 tour / min pendant 5 minutes.
- ✓ Prélever 0.5 ml du surnageant.
- ✓ Ajouter 1 ml du tampon tris, pH =9.6.
- ✓ Mélanger et ajouter 0.025 ml de l'acide 5,5'-dithio-bis -2-nitrobenzonique (DTNB).

- ✓ Laisser pendant 5 minutes dans la température ambiante pour la stabilisation de la couleur.
- ✓ Lire l'absorbance optique à 412 nm contre un blanc contenant l'eau distillée à la place de l'homogénat.
- ❖ **calcul :**

$$GSH_{Do} = \frac{Do \times 1 \times 1.525}{13100 \times 0.8 \times 0.5 \text{ mg Prt}}$$

DO: densité optique.

1: le volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0,8 ml homogénat +0,2 ml SSA).

1.525 : le volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0,5 ml surnageant +1 ml tris EDTA +0,025 ml DTNB).

13100 : Coefficient d'absorbance (concernant le groupement – SH à 412 nm).

0,8 : le volume de surnageant trouvé dans 1 ml.

0,5 : le volume de surnageant trouvé dans 1.525 ml.

5.9. Dosage des protéines hépatiques :(Bradford,1976)

❖ **Principe :**

Les protéines réagissent avec un réactif coloré contenant de l'acide orthophosphorique de l'éthanol aussi que le bleu de coomassie (BBC). Ce réactif réagit avec le groupement (-NH₂) des protéines. L'intensité de la couleur reflète la concentration des protéines se fait selon la méthode de Bradford (1976).

❖ **Echantillon :** le foie.

❖ **Les réactifs utilisés :**

- ✓ Le bleu de coomassie G 250 (BBC).
- ✓ L'acide orthophosphorique.
- ✓ Sérum albumine de bovin (SAB).

❖ **Préparation de réactif de Bradford :**

- ✓ Dissoudre 100mg de la poudre de bleu de coomassie dans 50 ml d'éthanol (95%).
- ✓ Agiter le mélange pendant 2 heures avec un agitateur.
- ✓ Ajouter 100 ml de l'acide orthophosphorique (H₃PO₄)85 %.
- ✓ Compléter le volume jusqu'à 1 litre avec l'eau distillée.
- ✓ Filtrer la solution obtenue avec un papier filtre.

Ce réactif est stable pendant 2 semaines à 4 °.

❖ **Mode opératoire :**

- ✓ Prélever 0.05 ml de l'homogénat.
- ✓ Ajouter 2.5 ml de réactif de Bradford.
- ✓ Agiter et laisser 5 min pour stabilisation de la couleur.

Mesurer l'absorbance optique à 595 nm contre le blanc contenant l'eau distillée à la place de l'homogénat. La densité optique obtenue est rapportée sur la courbe d'étalonnage préalablement tracée(0-1 mg/ml de sérum albumine de bovin).

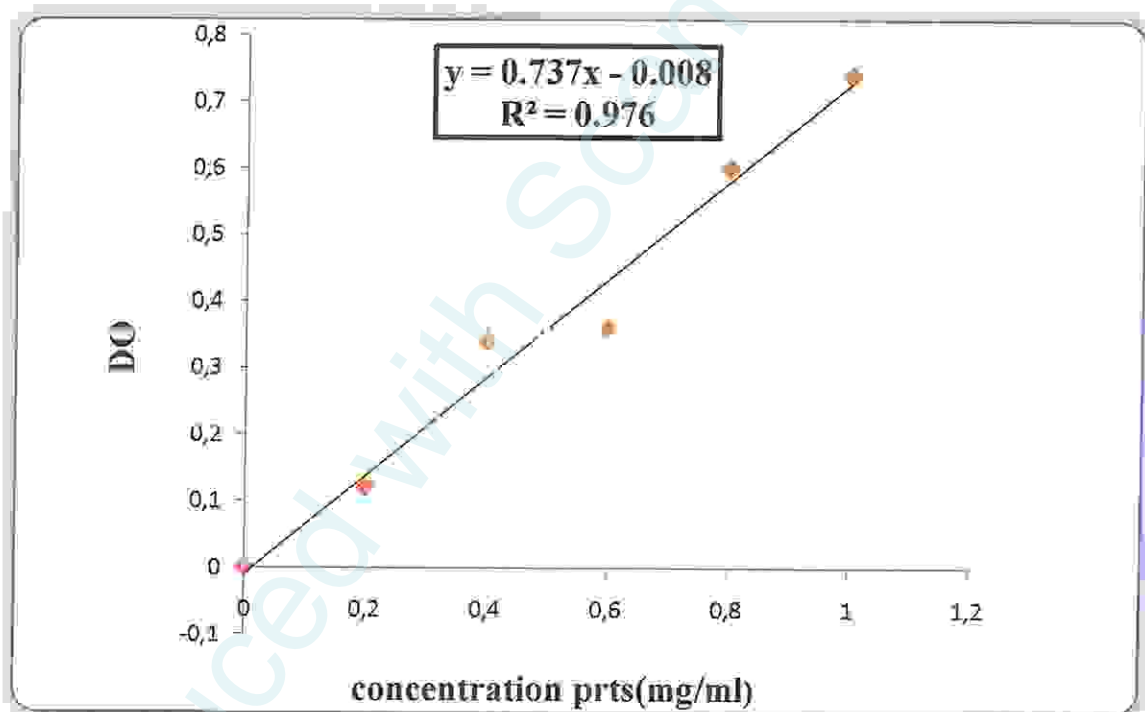


Figure 11: Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovin.

6. Etude histologique :

Les coupes histologiques du foie ont été réalisées suivant la technique classique du Houlot, 1984.

Pour chaque lapin. On prélève un fragment du foie de 0.5 cm³, ces fragments sont mis directement dans le Bouin alcoolique, fixateur couramment utilisé. Puis ces morceaux sont

Contribution à l'étude de l'effet de la vitamine E sur la toxicité de plomb

retirés et coupés à l'aide du couteau tranchant à fin de réaliser des prélèvements pour l'étude histologique avec une surface de 1-2 cm² et une épaisseur proche de 1,5 mm. Les pièces obtenues sont alors mis dans des boîtes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage des liquides.

6.1. Déshydratation :

Les échantillons sont ensuite déshydratés pendant 12 heures au minimum pour éliminer l'eau Des tissus, cette opération nécessite le passage du tissu dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70%, 80% ,90% et 100%).

6.2. Inclusion :

Les pièces anatomiques sont alors plongées dans des bains de paraffine liquide, puis on procède à l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe. La réalisation des coupes minces de quelque micron (5 µm en moyenne) sont possibles grâce d'un microtome. Ces coupes sériées sont reliées entre elles sous forme des rubans ; les quels sont par suite étalés sur des lames porte -objets, dépliés et fixés sur les lames par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

6.3. Coloration :

Selon la technique à l'hémalum-éosine, la coloration suit les étapes suivantes :

- 1- Déparaffiner et hydrater les lames à eau de robinet puis rincer à l'eau distillée.
- 2-Immerger dans un bain d'hématoxyline de Harris (15 min) qui colore en bleu violacée.
Les structures basophiles (noyau).
- 3-différencier les coupes dans l'alcool acide (100 ml éthanol à 70 % +50 ml HCL) puis rincer à l'eau de robinet.
- 4-bleuir dans un bain d'eau ammoniacale (100 ml d'eau distillée +2 ml d'ammoniaque).
- 5- immerger dans un bain d'Eosine (15 secondes à 2 min) qui colore les structures acidophiles (cytoplasme).

6- déshydrater, éclaircir et monter les lames à Eukitt. Tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau de robinet.

7-Enfin, passer à l'observation au microscope photonique, lequel est équipé d'un appareil photographique.

7. exploration statistique des résultats :

- Les calculs statistiques ont été effectués à l'aide d'un logiciel d'analyse et de traitement statistique des données (Origine 6.0).
- Les résultats sont représentés sous la forme (moyenne ± écart type moyen) et les différences ont été considérées significatives à $P \leq 0.05$.
- Nous avons déterminé, grâce aux statistiques élémentaires ; les paramètres statistiques de base biochimique et hépatiques, pour chaque lot expérimental. Les données ont été analysées par l'analyse de variance à un critère de classification (ANOVA).
- A l'aide de ce test(ANOVA), nous avons comparé les moyennes deux à deux pour chaque variable (paramètre étudié).

***Résultats et
Interprétations***

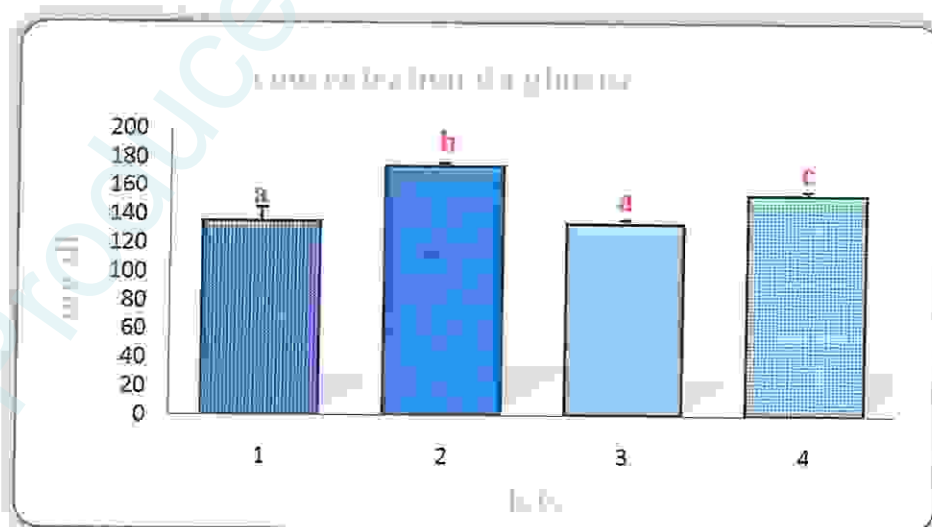
Produced with ScantOPDF

Tableau 3 : représente la concentration sérique du glucose (mg/ dl), du cholestérol (mg/dl), et triglycérides (mg/dl) chez les lots expérimentaux.

	Témoin sain (n=4) M ± SEM	plomb (n=4) M±SEM	plomb +vitamine E (n=4) M ±SEM	vitamine E (n=4) M ±SEM
Glucose	134.5 ^a ± 10.25	173.5 ^b ± 2.5	133.25 ^a ± 3.25	153.25 ^c ± 3.25
Cholestérol	84.25 ^a ± 0.75	88.75 ^b ± 1.75	66 ^a ± 9	88.75 ^b ± 0.375
Triglycérides	71.5 ^a ± 5.75	90 ^b ± 8	58.5 ^a ± 1.5	94 ^b ± 4

a, b, c, sont des lettres alphabétiques. S'il ya une différence dans leur écriture dans la même ligne cela veut dire qu'il ya une différence significative (P<0.05).

n : nombre des échantillons



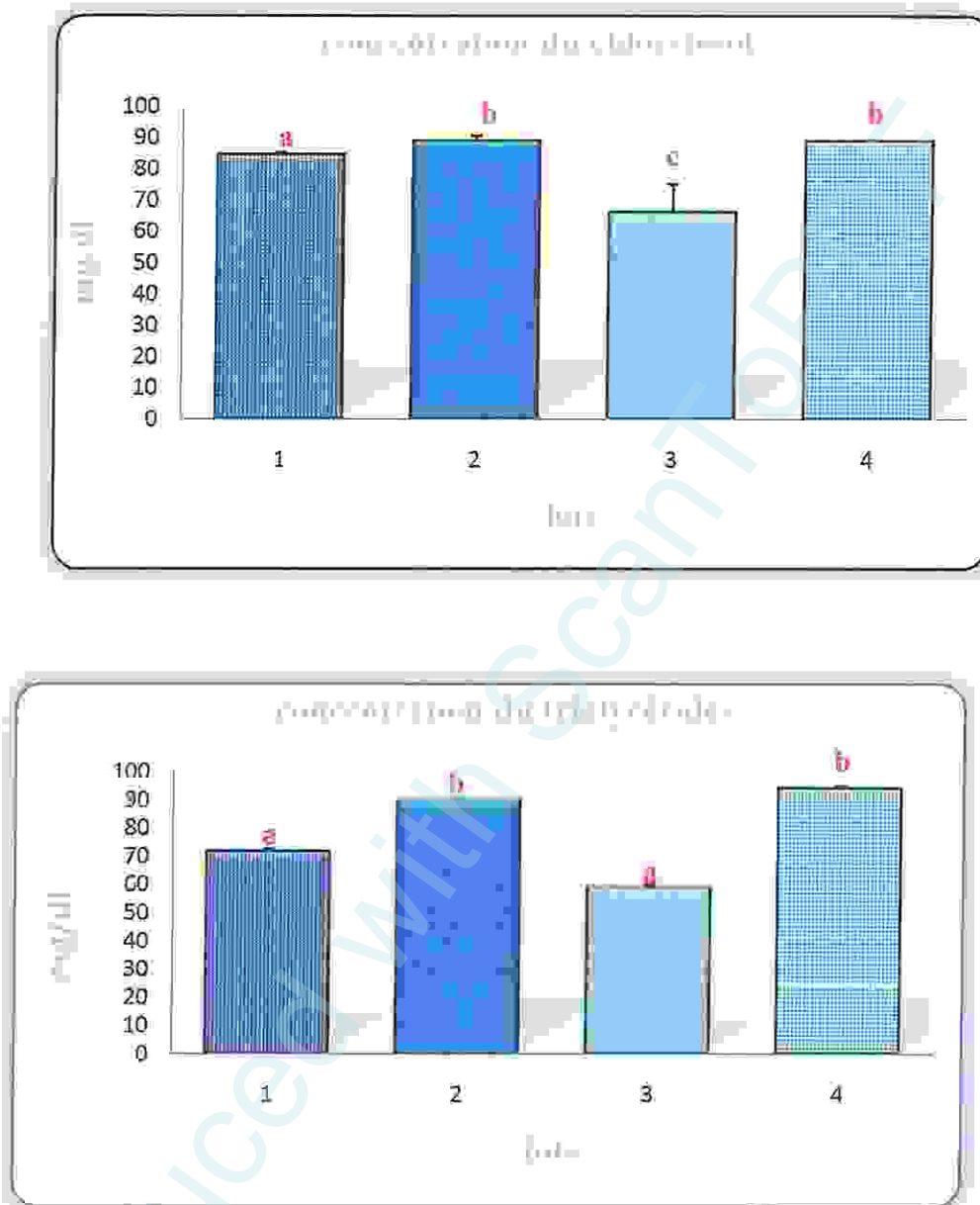


Figure 12: l'effet de traitement sur la variation de la concentration sérique du glucose, du cholestérol et triglycérides chez les lots expérimentaux.

Nos résultats illustrent qu'il existe une augmentation, hautement significative de la concentration sérique du glucose ($P < 0.01$), significative de la concentration sérique du cholestérol et des triglycérides, ($P < 0.05$), chez le groupe injecté par le plomb par rapport au témoin. Par contre le groupe traité par la vitamine E présente une diminution très hautement significative de la concentration sérique du glucose ($P < 0.001$), significative de la

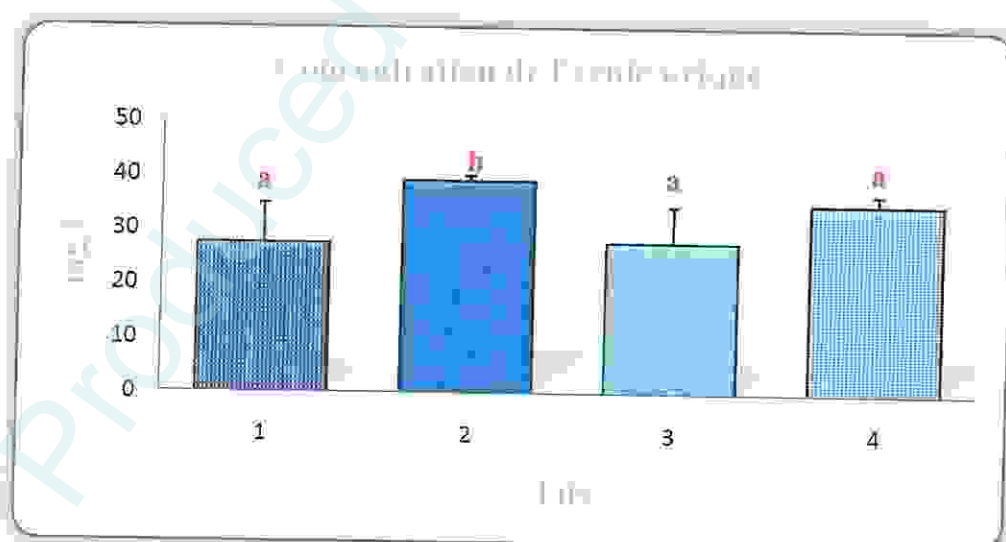
concentration sérique du cholestérol, ($P < 0.05$) et très hautement significative de la concentration sérique des triglycérides ($P < 0.001$) par rapport au groupe non traité.

Tableau 4: représente la concentration sérique de l'urée (mg/dl), de l'acide urique (mg/l) chez lots expérimentaux

	Témoin sain (n=4) M ± SEM	plomb (n=4) M ± SEM	Plomb+vitamine E (n=4) M ± SEM	vitamine E (n=4) M ± SEM
L'acide urique	27.41 ^a ± 7.415	38.93 ^b ± 1.065	27.64 ^a ± 6.767	34.83 ^a ± 1.935
L'urée	30.25 ^a ± 0.375	33.25 ^b ± 0.75	24 ^a ± 3.5	27.75 ^a ± 1.375

a, b, c, sont des lettres alphabétiques. S'il ya une différence dans leur écriture dans la même ligne cela veut dire qu'il ya une différence significative ($P < 0.05$)

n = nombre des échantillons



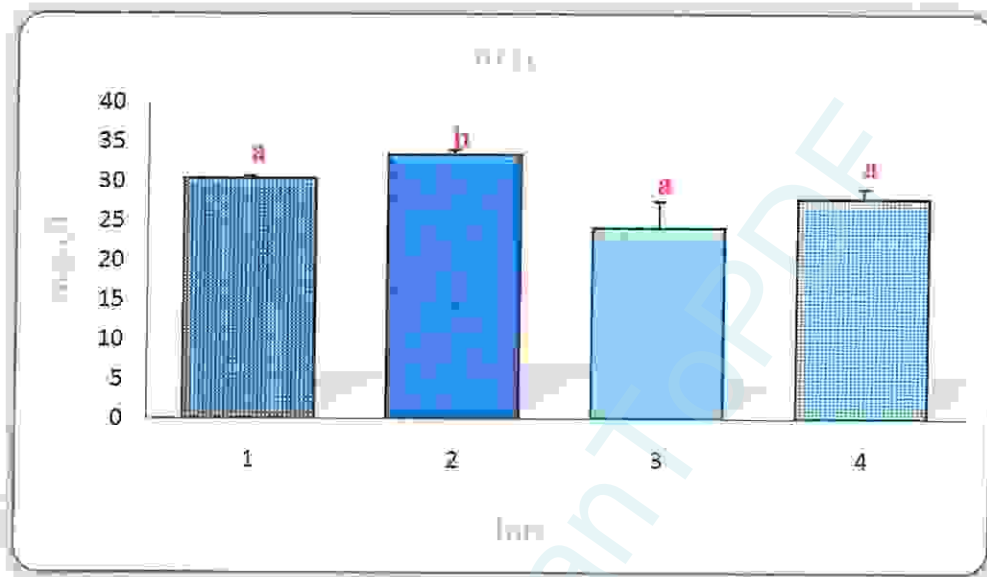


Figure 13 : l'effet de traitement sur la variation de la concentration sérique de l'acide urique et de l'urée chez les lots expérimentaux.

Nos résultats montrent qu'il y a une augmentation significative de la concentration sérique de l'acide urique ($P < 0,05$), hautement significative de la concentration sérique de l'urée ($P < 0,01$) chez le groupe injecté par le plomb par rapport aux témoins. Après traitement par la vitamine E on remarque une diminution significative ($P < 0,05$) de la concentration sérique de l'acide urique et de l'urée.

Tableau 5 : représente l'activité enzymatique de l'aspartateaminotransférase (AST/TGO) (U/l), de l'alanine aminotransférase (ALT/TGP) (U/l) chez les lots expérimentaux.

	Témoin sain (n=4)	plomb (n=4)	plomb +vitamine E (n=4)	vitamine E (n=4)
	M ± SEM	M ± SEM	M ± SEM	M ± SEM
TGO	32 ^a ± 1.5	42.5 ^b ± 3.75	28.5 ^a ± 1.75	30.75 ^a ± 1.12
TGP	82.5 ^a ± 2.5	126 ^b ± 9	90 ^a ± 1	79.25 ^a ± 1.25

a, b, c, sont des lettres alphabétiques. S'il ya une déference dans leur écriture dans la même ligne cela veut dire qu'il ya une déference significative ($P < 0,05$)

n : nombre des échantillons

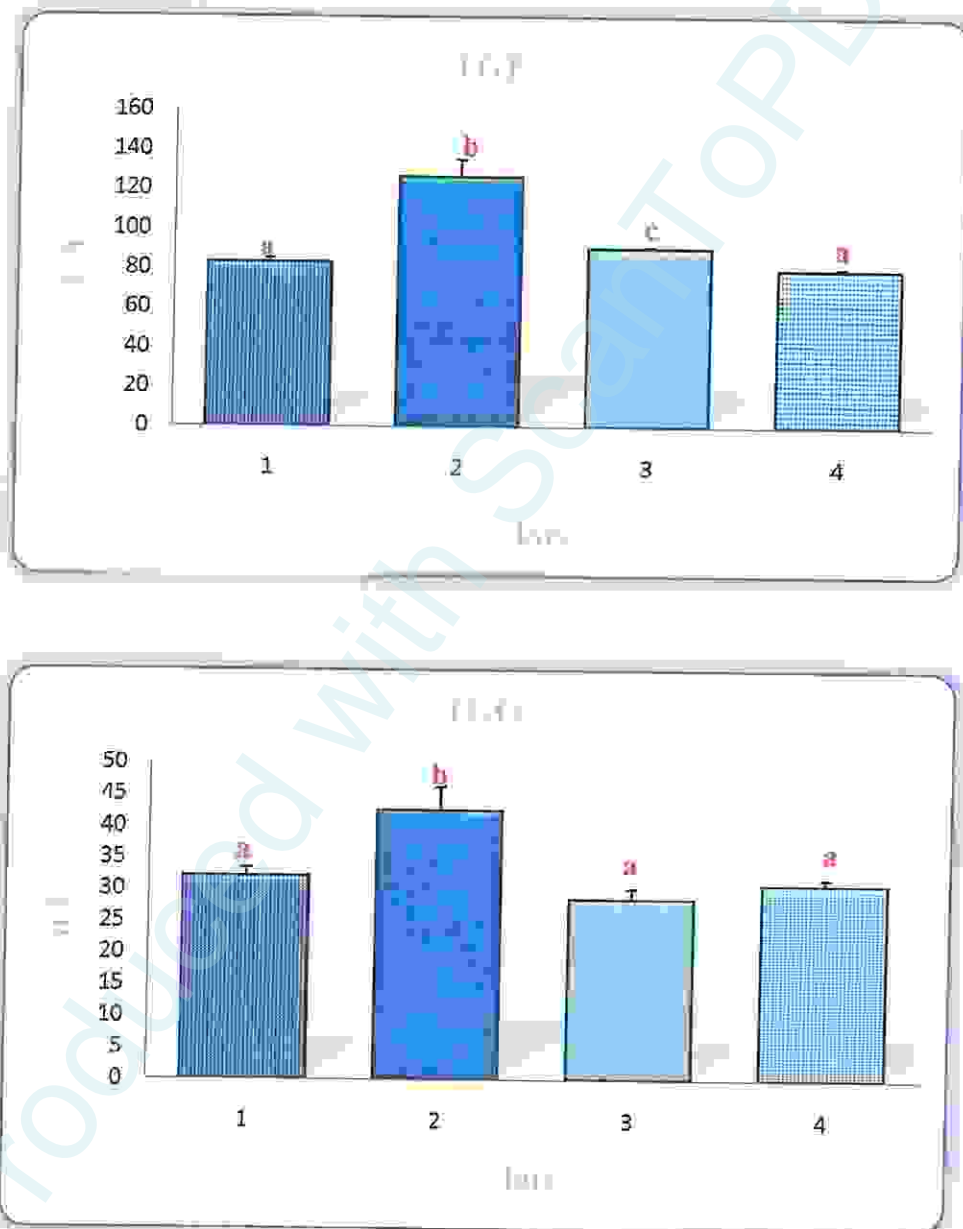


Figure 14: l'effet de traitement sur l'activité enzymatique de l'aspartateaminotransférase(ASAT /TGO), de l'alanine aminotransférase (ALAT/TGP) chez les lots expérimentaux

Les résultats illustrés, montrent une augmentation de l'activité enzymatique des transaminases: très hautement significative de TGP ($P < 0.001$) et hautement significative de TGO ($P < 0.01$) chez les lapins injectés par le plomb par rapport aux témoins. Après traitement par la vitamine E on enregistre une diminution très hautement significative de la concentration sérique de (TGP) ($P < 0.001$), hautement significative de la concentration sérique de (TGO) ($P < 0.01$).

Tableau 6: représente la concentration sérique des protéines totales (g/dl) et du glutathion hépatique (nmol/mg prot) chez les lots expérimentaux.

	Témoin sain (n=4)	plomb (n=4)	plomb +vitamine E (n=4)	Vitamine E (n=4)
	M ± SEM	M ± SEM	M ± SEM	M ± SEM
Protéines totales	64.6 ^a ± 4.6	53.67 ^b ± 0.72	60.25 ^a ± 3.75	62.3 ^{ab} ± 2.2
glutathion	16.48 ^a ± 0.99	11.13 ^b ± 0.37	15.57 ^{bc} ± 1.33	13.32 ^c ± 1.12

a, b, c, sont des lettres alphabétiques. S'il ya une différence dans leur écriture dans la même ligne cela veut dire qu'il ya une différence significative ($P < 0.05$)

n: nombre des échantillons

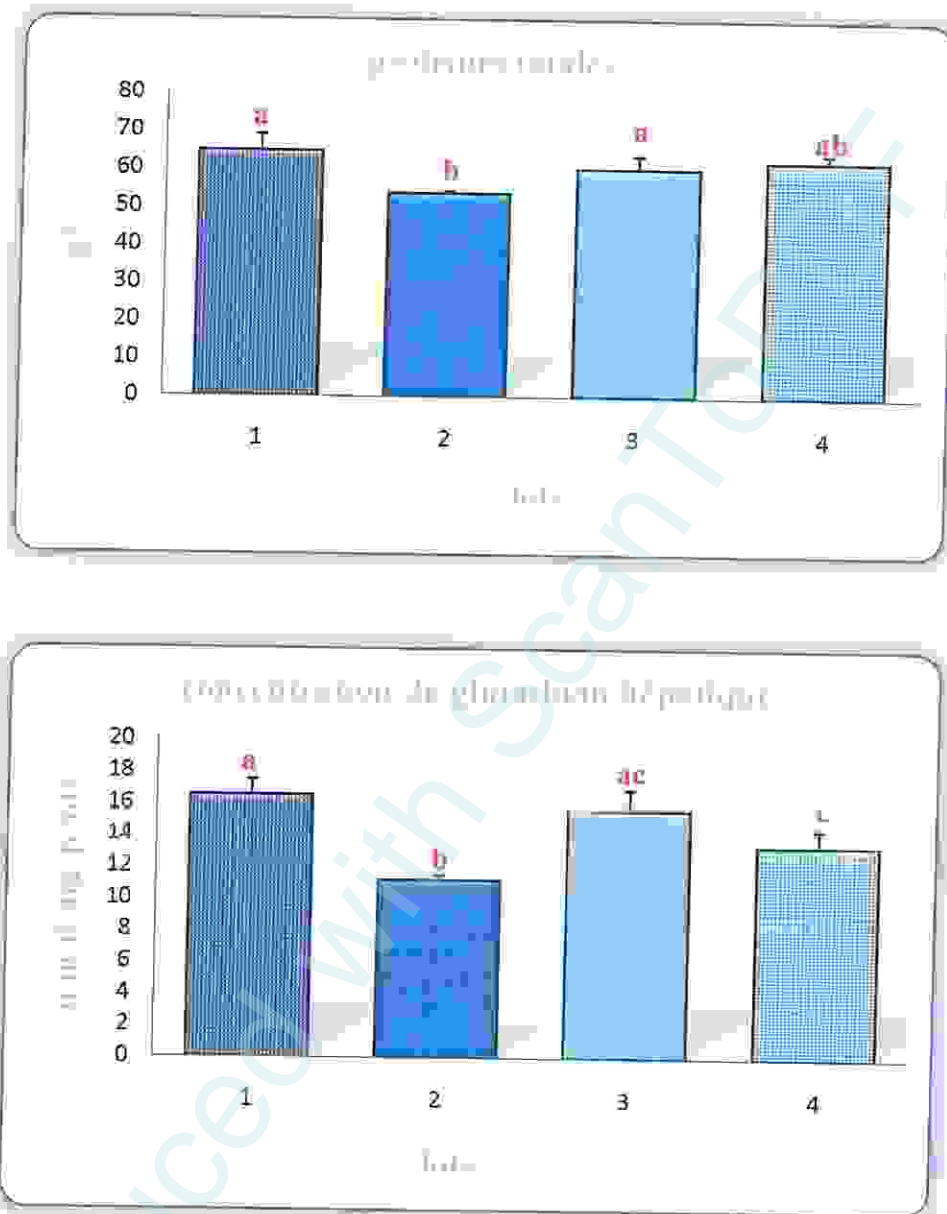


Figure 15: P'effet de traitement sur la variation de la concentration sérique des protéines totales et du glutathion hépatique chez les lots expérimentaux.

Nos résultats révèlent une diminution significative de la concentration sérique des protéines totales ($P < 0.05$), très hautement significative de la concentration sérique du glutathion chez le groupe injecté par le plomb par rapport aux témoins. Alors que le groupe traité par la vitamine E présente une augmentation significative de la concentration sérique des protéines

totales ($P < 0.05$), hautement significative de la concentration sérique du glutathion hépatique ($P < 0.01$).

Tableau 7 : représente la concentration sérique de l'hémoglobine (g /dl) chez les lots expérimentaux.

	Témoin sain (n=4)	plomb (n=4)	plomb+vitamine E (n=4)	vitamine E (n=4)
	M ± SEM	M ± SEM	M ± SEM	M ± SEM
HB	10.55 ^a ± 0.45	9.82 ^b ± 0.18	11.62 ^a ± 0.86	10.95 ^a ± 0.42

a, b, c, sont des lettres alphabétiques. S'il y a une différence dans leur écriture dans la même ligne cela veut dire qu'il y a une différence significative ($P < 0.05$)

n : nombre des échantillons

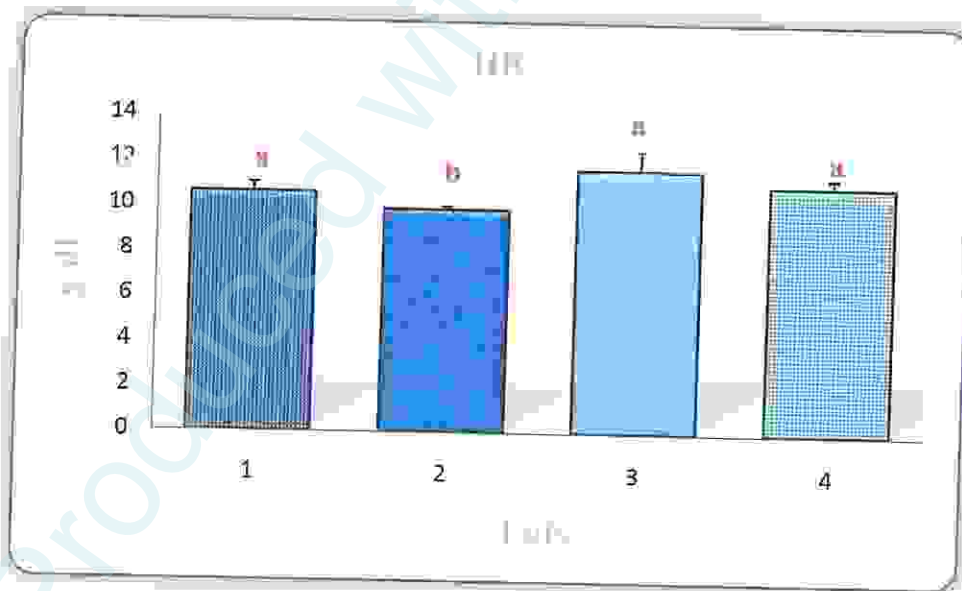
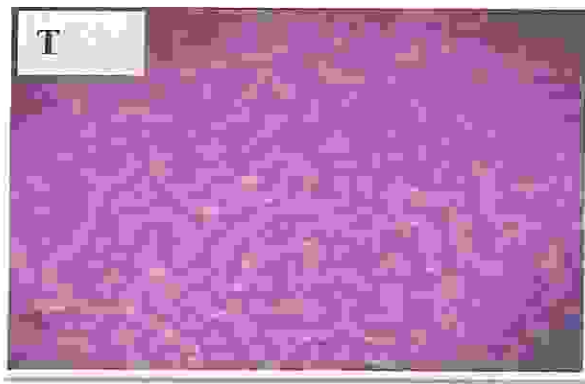


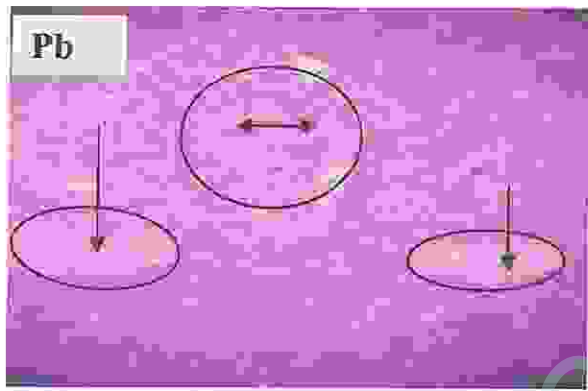
Figure 16 : l'effet de traitement sur la variation de la concentration sérique d'hémoglobine chez les lots expérimentaux.

Selon le tableau (7) et la figure 13 on enregistre une diminution significative de la concentration sérique de l'hémoglobine ($P < 0.05$) chez le groupe injecté par le plomb par rapport témoin, or le traitement par la vitamine E révèle une augmentation significative de la concentration sérique de l'hémoglobine.



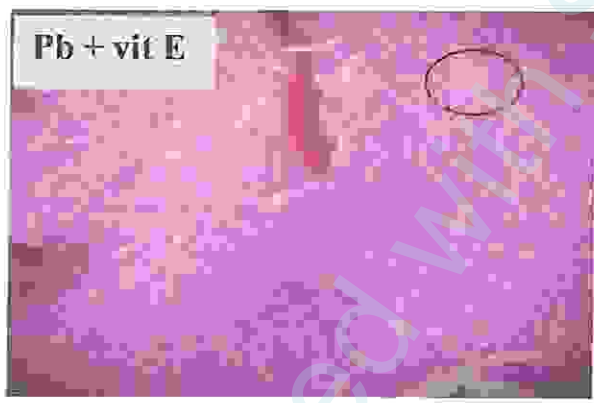
Groupe : témoin

- Parenchyme hépatique d'architecture conservée
- Plusieurs espaces ports
- Les cellules hépatocytes sans modification.



Groupe : plomb

- Plusieurs espaces ports élargis.
- Lymphoplasmocytaire avec identification des discrètes fibroses portales.
- Les hépatocytes présentent des signes de souffrance hépatique.



Groupe : plomb + vitamine E

- Les altérations morphologiques sont moins intenses.



Groupe : vitamine E

- Parenchyme hépatiques sans modification.

Figure 16: les coupes histologiques de foie ($\times 100$).

Discussion et Conclusion

Produced by ScantOPDF

La protection contre les métaux lourds est un problème qui n'a pas été résolu de manière satisfaisante jusqu'à présent. Les métaux lourds (plomb, nickel, cadmium ...) peuvent agir comme des catalyseurs de détérioration oxydative des macromolécules. Cela peut se produire par la formation d'oxygène actif, l'augmentation de la peroxydation lipidique, la diminution des groupements sulfhydryles et la lésion oxydative du tissu (Aust et al., 1985 ; Stals et Bagchi, 1995) .Nous avons tenté dans le cadre de cette étude, d'évaluer l'impact d'un métal toxique (plomb) sur des lapins cuniculus lepus. Mais notre attention sera fixée sur l'action protectrice possible de la vitamine E sur les effets toxiques de ce métal.

Dans nos conditions expérimentale, l'administration intrapéritonéale de 25mg /kg de plomb pendant 21 jours a provoqué une augmentation significative du glucose. Cette hyperglycémie est probablement due aux effets du stress oxydative induit par le plomb. Santure et al., 2002 ont montré que le stress oxydatif est responsable d'une multitude des dysfonctions métaboliques comme la résistance à l'insuline. L'état de la résistance à l'insuline est caractérisé par une diminution de la réponse des cellules insulinosensibles à l'insuline. L'insulinorésistance entraîne une élévation de taux circulant d'insuline et une intolérance au glucose avec une diminution de la stimulation du captage du glucose par l'insuline. Ce qui inhibe la pénétration du glucose dans les tissus et provoque une hyperglycémie (Baudler et al., 2003).Après le traitement par la vitamine E la concentration sérique du glucose est diminuée presque à la normale et ceci suggère que la vitamine E a un effet hypoglycémiant.

Nous avons enregistré une augmentation très claire de la concentration sérique de cholestérol et des triglycérides chez les lapins injectés par le plomb par rapport aux témoins, cette augmentation est due à la dégradation des lipides des tissus adipeux pour fournir l'énergie nécessaire aux fonctions vitales de l'organisme. Cartana et Arola, 1992 ont rapporté un niveau augmenté du glycérol sérique, avec une augmentation similaire des acides gras libres après l'injection de plomb. Ces résultats sont confirmés aussi par une étude de Das et Al., 2006. Alors que la vitamine E a diminué la concentration de cholestérol et des triglycérides par la diminution de la peroxydation lipidique et l'augmentation de l'activité de superoxyde dismutase(SOD) et par conséquence un effet positif sur l'hémostasie de glucose.

En revanche, nous avons constaté une réduction significative de la concentration des protéines totales dans le sérum chez le groupe injecté par le plomb par rapport au témoin. Ceci s'explique par ; le fait que la plus part des protéines possèdent des groupements (SH, OH) ces derniers réagissent avec le plomb et les radicaux libres générés par ce métalloïde et par conséquence ces protéines peuvent se dénaturer et se fragmenter, ou perdre leurs structures primaires et secondaires (Ahmed et Siddique,2007).

Par ailleurs, l'administration de la vitamine E aide à élever le contenu des protéines cette propriété de la vitamine E pourrait être attribuée a son rôle dans la synthèse de metallothionine, et régler de cette façon les précurseurs des acides aminés pour la synthèse des protéine (Dhawan et al., 1992 ;tekeli et al.,2002 ;capcarova et al., 2008).

Nos résultat sont révéle aussi que la dose injectée du plomb a induit une augmentation significative de la concentration sérique de l'urée et de l'acide urique, qui est considérée comme un biomarqueur de la dysfonction rénale et la filtration glomérulaire cette augmentation est expliquée par les dommages rénaux et l'effet néphrotoxique provoqués par le plomb (Finco, 1997 ; Thylambal et Saroja,2004 ; Nandi et al., 2006 ; El-Demerdash et al., 2009).

De plus, l'augmentation de l'urée dans le sérum est corrélée avec l'augmentation de catabolisme protéique, les protéines peuvent être dégradées en acides aminés puis en urée (L'urée est le produit final de dégradation des protéines). Ceci confirme le résultat précédent concernant la diminution des protéines totales alors que l'augmentation de l'acide urique peut s'expliquer par la dégradation de matériel génétique (ADN, ARN).Après le traitement par la vitamine E la concentration de l'urée et de l'acide urique est diminuée presque à l'état normal, Il semble que la vitamine E protège le rein contre l'effet néfaste du Pb, il augmente les processus de défense cellulaire vis-à-vis les effets cytotoxiques du stress oxydant induit par le plomb et il réduit la production des radicaux libres(Ahmed et Siddiqui,2007)

Pour l'activité enzymatique, nous avons constaté une augmentation hautement significative de l'activité enzymatique des transaminases (TGP, TGO) chez le groupe injecté par le plomb, cette augmentation est liée d'une part à l'effet hépatotoxique du plomb où l'accumulation de ce métal et les métabolites toxiques de la peroxydation lipidique provoque une lésion des

cellules hépatiques qui déversent leurs contenu tels que les transaminases dans le sang (Klaassen et Watkin, 1984 ; Ronald et Koretz , 1992), ce résultat est confirmé par les constatations histologiques de foie .D'autre part à l'accumulation des acides aminés comme l'alanine et l'acide glutamique dans le sérum, provenant de la dégradation des composés protéiques. Ainsi ces acides aminés peuvent se transformer sous l'action des transaminases sériques en composés carboxyliques tels que l'acide α céto glutamique et l'acide pyruvique puis en glucose. Ce qui implique alors une forte activité enzymatique de TGO et TGP. (Donskey et al., 1986 ; chen et al., 1998) .

Alors que, le groupe traité par la vitamine E a montré une diminution de transaminases donc l'effet précité indique clairement que la vitamine E peut offrir la protection en se stabilisant la membrane cellulaire contre les désordres hépatiques induit par le plomb (Paken, 1991).

Nos résultats montrent que l'injection intrapéritonéal de plomb a provoqué une diminution hautement significative du GSH au niveau du foie. La baisse de GSH peut être expliquée par plusieurs hypothèses :

Le GSH joue un rôle clé dans la détoxification des radicaux libres et des métaux lourds (Hultberg et al., 2001); et donc le cas du plomb le glutathion peut interagir avec les radicaux libres générés par ce métalloïde (Chen et al., 1998; Ifo et al., 1998; Flora, 1999; Flora et al., 2005) ce qui induit probablement une augmentation dans l'utilisation du glutathion.

D'autre part le plomb inhibe la glutathion synthétase, et la glutathion réductase (Bisson, 2002), donc peu de GSH est produit. Tous ces facteurs conduisent à une forte diminution du glutathion réduit (GSH) et une augmentation du glutathion oxydé (GSSG), et par conséquence une diminution de la activité des enzymes GSH-dépendantes.

L'organisme possède tout un arsenal d'enzymes qui permettent de lutter contre le stress oxydant. Cependant ces enzymes peuvent être affectées par le plomb, qui agisse en provoquant la décroissance des activités des enzymes antioxydantes telles que la CAT, les SOD, la GPx (Ramos et al., 1995). Ainsi il apparaît nécessaire de mesurer les activités de ces enzymes pour évaluer l'impact de plomb comme agent inducteur de stress oxydant.

Par contre, le traitement par la vitamine E entraîne une amélioration importante, où le taux de glutathion hépatique revient presque à la normale. Ceci est due à l'effet antioxydant de cette

vitamine à cause de son action indirecte à réduire les niveaux des espèces réactives d'oxygène, qui est due la plupart du temps de sa haute affinité pour les métaux lourds (Templeton et Cherian, 1991 ; Klassen et al., 1999, par conséquent résulter en stress oxydant réduit, ces résultats en accord avec l'étude de Sidhu, 2004; Pari et Prasath, 2008.

L'analyse de nos résultats a montré que le plomb, a induit aussi une diminution importante d'hémoglobine. On peut dire que le plomb a provoqué une anémie (chute du taux du Hb).

Cette anémie est due d'une part ; aux effets des radicaux libre générés par le plomb sur les globules rouges, où certains radicaux libres comme ; $O_2^{\cdot -}$ et OH sont des espèces très réactives capables de provoquer des dommages cellulaires par le biais de la peroxydation des lipides membranaires, de plus en présence de fortes concentrations de ces radicaux, l'hémoglobine peut facilement s'oxyder (Griggs 1964 ; Wadron, 1966 ; Gurer et al., 1998 ; Hughes, 2002 ; Modi et al., 2006) .

D'autres part, l'ALAD l'acide δ -aminolévuliniquedéshydratase est une enzyme possède des groupements sulfhydriles et catalyse la biosynthèse de l'hème, (Emmanuelli et al., 1998), elle est très sensible aux effets toxiques de plomb qui est capable de dénaturer ou inhiber la fonction de cette enzyme (Almad et al., 2002).

L'inhibition de l'activité de l'ALAD et la diminution de la synthèse de l'hème induit une réduction de l'hémoglobine et conduit à l'apparition de l'anémie. Ces résultats sont en accord avec les études de Kalia et al., 2006 ; Modi et al., 2006.

Tandon et ses collaborateurs, 1993, ont montré que les métaux lourds comme le plomb, l'arsenic, le nickel et le cadmium peuvent provoquer l'altération de nombreux paramètres hématologiques, ceci confirme la diminution significative de Hb provoquée par l'administration de plomb.

Cependant, cette anémie est améliorée chez le groupe traité par la vitamine E ce qui montre l'effet antioxydant de la vitamine E contre l'effet toxique de plomb (Levander, 1977).

Conclusion

Notre étude s'est basée sur l'effet de la vitamine E sur la toxicité de l'acétate de plomb et suite à cela, nous avons enregistré que :

L'injection de l'acétate de plomb chez les lapins de souche *Cuniculus lepus* a induit des perturbations du métabolisme glucidique, lipidique et protéique traduisant par une hyperglycémie, hypercholestérolémie ; augmentation de la concentration sérique des triglycérides, de l'urée et de l'acide urique accompagnés par une diminution des protéines totales. Alors que le traitement par la vitamine E a rétabli les valeurs de ces paramètres presque aux normes.

La toxicité de plomb a provoqué également des altérations histologiques du foie révélées par la dégénérescence des hépatocytes par fibrose portal dus à la surproduction des radicaux libres générés. Ceci est combiné à une déplétion du système de détoxification du glutathion.

Pour l'activité enzymatique, le plomb a provoqué une augmentation de l'activité des transaminases (TGP /TGO). Or la vitamine E a amélioré cette activité.

Enfin nous pouvons confirmer que la vitamine E est douée d'une activité antioxydante contre les effets toxiques de plomb.

Vu l'importance de ces résultats, il serait intéressant de développer la recherche afin de bien connaître le mécanisme réel de cette activité on prend en considération les recommandations suivantes.

- ✓ Travailler sur des autres dérivés de la vitamine E, en utilisant des différentes doses.
- ✓ Développer la recherche afin de bien connaître le mécanisme réel par lequel agit la vitamine E pour l'utiliser dans l'avenir comme un remède efficace contre la toxicité de plomb.

*Références
bibliographiques*

Produced with ScantPDF

Références bibliographiques

A

- **Abidi S.L.** *J. Chromatogr. A.* (2000) .Chromatographic analysis of tocol-derived lipid antioxidants; **881**: 197-216.
- **Abidi S.L., Mounts T.L. J et Chromatogr. A.** (1997) .Réversed-phase high-performance liquid chromatographic separations of tocopherols; **782**: 25-32.
- **Ademe .** (2006). "Bilan du recyclage 1996-2005 Partie 1 Synthèse générale et analyse par filière Rapport final." Administration of vitamine E. American Journal of Veterinary Research; **69**:785-790.
- **Ahmad, S., Kitchin, K.T., Cullen,W.R.** (2002). Plasmid DNA damage caused by methylated arsenical, ascorbic acid and human liver ferritin. Toxicol. Lett ;**133**: 47-57.
- **Ahmed, M. and Siddiqui, M. K.** (2007). Lowlevel lead exposure and oxidative stress: Current opinions. ClinicaChimica Acta; **283**: 57 – 64.
- **Ashok B, Ali R.** (1999) .the aging paradox: free radical theory of aging. Exp Gerontol 1999; **34**: 293-303
- **Aust, S ,D . morchouze , L,A and Thomas , C,E .** (1985).role of metal ions monygen radical reactions . free radic boil ,Med ;**1**:3-25.

B

- **Baudler, S., Krone, W., Bruning, J.C.** (2003). Genetic manipulation of the insulin signalling cascade in mice--potential insight into the pathomechanism of type 2 diabetes. Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab;**17**(3): 431-43.
- **Bonnefont-Rousselot, D., Thérond, P., Delattre, J.** (2003). Radicaux libres et Anti oxydants. In : Biochimie pathologique : aspects moléculaires et Cellulaires. Médecine-sciences. Flammarion (Ed), Paris :59-81.
- **Bradford, M.M.** (1976). A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principal of protein dye binding. *Anal. Biochim* ; **72**: 248-254.

- **Brgam. (2004).** "Guide méthodologique du plomb appliqué à la gestion des sites et des sols pollués. Rapport final,brgm/rp -52881-FR."
- **Buccolo, G et al. (1973).** Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. *Clin. Chem*, **19(5)**: 476-482
- **Burtis, A et al. (1999).** Tietz Textbook of Clinical Chemistray, 3rd ed AACC.

C

- **Carolinie, Januael. (2003).** stress oxydant au niveau des plaquettes sanguin humaines dans le contexte diabètes.
- **Chen, C.Y., Huang, Y.L and Lin, T.H. (1998).** Association between Oxidative Stress and Cytokine Production in Nickel-Treated Rats. *Archives of Biochemistry and Biophysics* ; **356 (2)**: 127-132.
- **Chen , R.and seaton , A . (1998).** A .meta -analysis of painting exposure and cancer mortality cancer detect .Prev ; **22**:533,328.
- **Claude Bourgeois. (2003).** les vitamines dans industries agroalimentaires, éditions TEC et DOC, pages 11 à 656.
- **Cuvelier C, Dotreppe O, Istasse L. (2003).** Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Annales de Médecine Vétérinaire* ; **147**:315-324.

D

- **Das,K.K.,Gupta,A.D.,Dhundasi,S.A.,Patil,A. M.,Das,S.N and Ambekar, J.G.(2006).**Effet of L-ascorbic,acid on Nickel-induced alterations in serum lipid profiles and liver histopathology in rats.*Basic.clin.physiol.pharmacol*;17:29-44.
- **Delattre J, Beaudoux JL, Bonnefont-Rousselot. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: Aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales Internationales Paris : 1 - 405.
- **Denisov, et afanas ev.(2005)** .IB oxidation antioxidants in organic chemistry.
- **Dhawan , D , Goel , A and Gautam ,C ,S.(1992).**effects of zinc intake on liver enzymes in toxicity carbontetrachlorideinduced liver injury ,*Med ,sec,res* ;20:55-56.
- **Diallo A. (2005).** étude de phytochimie et de l'activité biologique de syzygium guineense, willd.

- **Donskoy ,E.,Donskoy, M .. foroulhar F,Gillies ,CG., M, Marzouk , A Reid,M,C Zaharia –oans sunderman ,F,W.(1986).ann clin , lab ;16:108-117.**

E

- **El-Demerdash, F.M., Yousef, M.I., Radwan F.M.E. (2009).** Ameliorating effect of curcumin on sodium arsenite-induced oxidative damage and lipid peroxidation in different rat organs. *Food and Chemical Toxicology* ; 47: 249–254.
- **Emmanuelli, T., Rocha, J.B.T., Pereira, M.E., Nascimento, P.C., Souza, D., Beber, A. (1998).** D aminolevulinatè dehydratase inhibition by 2,3-dimercaptopropanol is mediated by chelation of zinc from a site involved in maintaining cysteinyl residue in a residue in a reduced state. *Pharmacol. Toxicol* ; 83 : 95–103.

F

- **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanismes biochimiques. L'actualité Chimique* ; 108 :115.
- **Finco, D.R. (1997).** Kidney function. In: Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruce, M.L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals.* Academic press, San Diego, California: 462: 478.
- **Flora, S.J.S. (1999).** Arsenic induced oxidative stress and its reversibility following combined administration of N-acetylcysteine and meso 2,3- dimercaptosuccinic acid in rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol*; 26: 865-869.
- **Flora, S.J.S., Bhadauria, S., Pant, S.C., Dhakad, R.K. (2005).** Arsenic induced blood and brain oxidative stress and its response to some thiol chelators in rats. *Life. Sci*; 77:2324–2337
- **Fontaine. (1998).** production des radicaux libres oxygénés BP217 38043gremoble
- **Frang, yz, yang, s wu G. (2002).**free radicals, antioxydants and nutrition; 18:872-9.

G

- **Griggs, R. C. (1964)** Lead poisoning: heamatologie aspects, *Prog. Hematol*; 4:117-137.
- **Grosman M et Melef J.J, (2000).** Le mercure des amalgames dentaires : Quels risques pour la santé et l'environnement Mémoire, Montpellier, 190 p.

- **Gurer, H., Ozunes, H., Neal, R., Spitz, D.R., Ercal, N. (1998).** Antioxidants effects of N-acetylcysteine and succimer in red blood cells from lead exposed rats. *Toxicology*; 120:181–189.

H

- **Haber ,L T., Diamond,G.M., Zhao, Q., Erdreich, L and Dourson, M.L.(2000).**Hazard identification and dose response of ingested nickel-soluble salts .*Regul Toxicol.Pharmacol*;31 (2 pt 1):231-41.
- **Halliwell B. (1997).** antioxidants and human disease.: General introduction .*nutre*
- **Halliwell, B. (1996).** Antioxidants in Human health and diseases. *Annu Rev. Nutr*; 16:33.
- **Hammond, PB., Minnema, DJ., Succop, PA. (1993).** Reversibility of lead –induced depression of growth. *Toxicol. Appl. Pharmacol*; 123 : 9-15.
- **Hanafy, S. and Soltan M. E. (2004).** Effect of Vitamin E. pretreatment on subacute toxicity of mixture of Co, Pb and Hg nitrateinduced nephrotoxicity in rats. *Enviro. Tox. Pharm*; 17: 159 – 167.
- **Hand MS, Thatcher CD, Remillard RL, Roudebush P. (2000).** *Nutrition clinique des animaux de compagnie*. 4ème édition, Mark Morris Institute Edition, Topeka, Kansas, 1208.
- **Harman D, aging. (2000).**overview .*Acad. sci*; 928 :1-21.
- **Higgins JK, Puschner B, Kass PH, Pusterla N. (2008).** Assessment of vitamin E concentrations in serum and cerebrospinal fluid of horses following oral administration of vitamine E. *American Journal of Veterinary Research*, 2008; 69:785-790.
- **Hughes, M.F., Pickering, L.J., Prince, R.C., Younis, H.S., Winzerling, J.J. (2002).** Arsenic toxicity and potential mechanism of action. *Chem. Res. Toxicol*; 15:1466–1471.

J

- **J. C. Roux, E, Forest et N. Milande. (1993).** Le champignon prise le métal.
- **Jean. (1989).** les vitamines , Editions jibena, pages 99 à 106.

- **Jean-Louis M. (2002).** additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires , 3è édition, Editions TEC & DOC.

K

- **Kalia, K ., Narula, G. D., Kannan ,G.M., Flora S.J.S. (2006).** Effects of combined administration of captopril and DMSA on arsenite induced oxidative stress and blood and tissue arsenic concentration in rats. *Comparative Biochemistry and Physiology* ; **144** : 372–379.
- **Kaplan, L.A et al. (1984).** Lipids. *Clin. Chem* ; 918-919.
- **Kaplan, L.A. (1984).** Glucose. *Clin. Chem* ; 1032-1036.
- **kazi T,(1990).** cours de biochimie glucides et vitamines , place centrale de ben Aknoun P130.
- **Klaassen , C . D ., Liu , J and Choudhuri ,S . (1999).** Metallothionein : an intracellular protein to protect against cadmium toxicity . *Annu . Rev . pharmacol , toxicol*;39:267-294.
- **Klaassen, C.D., Watkin, J.B. (1984).** Mechanism of formation, hepatic uptake and biliary excretion. *Pharmacol. Rev*; **36**:1–67.
- **knight, JA.(1999).** free radicals , antioxidants , aging , et disease , washington D, AACCC press 21-43.

L

- **Lagadic, L., Caquet, T and Amiard .JC . (1997).** Biomarqueurs en écotoxicologie: Aspects fondamentaux. Edition Masson; pp: 33-97.
- **Laroche M ,Anton,PM ,Garcia ,villar R et al .(2003) .** protective effet of dietary nitrate on experimental in rats ,brjnut,P86-89.
- **Laurewy .R. (2000).** toxicologie industriel et intoxication professionnelle 4è edition pp155-158,192-195.
- **Levander, O.A. (1977).** Metabolic interrelationships between arsenic and selenium. *Environ. Health Perspect* ; **19** :159-164.

M

- **Maameri sarah. (2008).** étude de Pisticia atlantica de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosages des polyphénols essais antileishmaniens, université de

M'Hamed bougara boumerdes ,faculté des science ,option biochimie et microbiologie applique .

- **Mathé F., Robache A., Galloo J.C. (1999).** “ “ Conditions de prélèvements des particules en vue de l'analyse des métaux ”. Rapport LCSQA, Ecole des Mines de Douai, Etude n°5, décembre 1999
- **Mehdi chaabi. (2008).** étude photochimique et biologique d'espèces végétales africaines : *Euphorabia stenolada*, *Anogussus leiocorpeus* Gill, *limoniastrum feei*, universite de louis pasteur Strasbourg, faculté de pharmacie, disipline science pharmaceutique, spécialité pharmacognosie P 266.
- **Modi, M., Kaul, R.K., Gurusamy, M., Kannan, G.M., Flora, S.J.S. (2006).** Co-administration of zinc and n-acetylcysteine prevents arsenic-induced tissue oxidative stress in male rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*; **20**: 197–204.
- **Morrow PE et coll.(1980).** pulmanary retention of lead an expiremental study in man enviromental ,research P373,384.
- **Muniniche A ,ogier H,Sandubray J,M ,(1987).**éditeurs .les vitamine ,aspects métaboliques ,nutritionnels et thérapeutique paris : Masson .
- **Murray, R. (1984).** Aspartate aminotransferase. *Clin. Chem*; **1112-1116**.

N

- **Naito, H.K. (1984).** Cholesterol. *Clin. Chem*; 1194-11206 and 437.
- **Nandi, D., Patra, R.C., Swarup, D. (2006).** Oxidative stress indices and plasma biochemical parameters during oral exposure to arsenic in rats. *Food and Chemical Toxicology*; **44**: 1579–1584.
- **Packer. (1991).** Protective role of vitamin E in biological systems. *Am J Clin Nutr* ;**53**:1050S-1055S.
- **papas, AM.(1999).** other antioxydants, In papas et itor antioxydant status, diet, nutrition and health boca roton, FLA : CRC, press ; p231-48.
- **Pari, L. and Parsath, A.(2008).** Efficacy of caffic acid in preventing nickel induced oxidative damage in liver of rats . *biochem ,biothech* ; **173**:77-8.

R

- **Ramos, O., Carrizales, L., Yanez, L. (1995).** Arsenic increased lipid peroxidation in rat tissues by a mechanism independent of glutathione levels. *Environ. Health Perspect*; **103**: 85-88.
- **Ronald, L., Koretz, M.D. (1992).** Chronic hepatitis: science and superstition. In: Gitnick, G. *Current Hematology*. 12. Mosby-Year, Chicago; **53-75**.

S

- **Santure, M. (2002).** Induction of insulin resistance by high-sucrose feeding does not raise mean arterial blood pressure but impairs haemodynamic responses to insulin in rats. *Br. J Pharmacol* ; **137(2)**:185-96.
- **Schultz, A. (1984).** Uric acid. *Clin. Chem.* 1261-1266 and 418.
- **Scott D W ,Sheffey BE.(1987).**dermrstosis in dogs used by difrencieny ,cop anim parct;1:42-46.
- **Settle DM and CC Patterson. (1980).** "Lead in albacore: guide to lead pollution in Americans." *Science*; **207(4436)**: 1167-1176.
- **Sidhu ,P,Garg ,ML ,Moragenstern ,P.,VOGT JP.Butz ,T and Dhawan ,DK. (2004).**Role of zinc in regulating the levels of hepatic elements following nickel toxicity in rats , *Bio , trace Elem ,Res* ;**102**:161-172.
- **Sies H ,(1997).** "Oxidative stress: oxidants and antioxidants." *Experimental Physiology* **82(2)**: 291-295.Silbergeld E, M Waalkes and J Rice. (2000). "Lead as a carcinogen: Experimental evidence and mechanisms of action." *American Journal of Industrial Medicine* ; **38(3)**: 316-323.
- **Sposito G, LJ Lund and AC Chang. (1982).** "Trace Metal Chemistry in Arid-zone Field Soils Amended with Sewage Sludge: I. Fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd, and Pb in Solid Phases." *Soil Science Society American Journal*; **46(2)**: 260-264.
- **Stahs ,S ,jand bagchi , D ,(1995).**oxidative mechanism in the toxicity of metal ions . *free Radic ,ces commu* ; **9**: 101-102.

- **Stengel, B.** (1996). Maladies rénales d'origine toxique professionnelle, in : Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Elsevier, Paris, (Toxicologie, Pathologie professionnelle, 16-530-H- 10; Néphrologie-Urologie ; 18-067-A-10, p.8.
- **Stief TW.**(2003).The physiology and pharmacology of singlet oxygen. *Med Hypoth* 2003; 60: 567-72
- **Sumino, K., Hayakawa, K., Shibata, T., Kitamura, S.** (1975). Heavy metals in normal japanese tissues. Amounts of 15 heavy metals in 30 subjects. *Arch. Environ. Health.* 30;487-494.

T

- **Tandon, S.K., Klandwal, S., Jain, V.K., Marthur, N.** (1993). Influence of dietary iron deficiency on acute metal intoxication. *Industrial. Toxicologie. Research. Center. Biometals*; 6: 133-38.
- **Tekeli, ST.** (2002). The study of effects on serum, glucose, total lipid, total protein and albumin levels of orally zinc in rats. *Trace Elem and electro*; 19:6-10.
- **Templeton, D .M and cherian, M, G.** (1991).Toxicological significance of metallothionein .*methods enzymol* ;205:11-24.
- **Thylambal R, Saroja PM.** (2004) .Therapeutic efficacy of lipoic acid in combination with dimercaptosuccinic acid against leadinduced renal tubular defects and on isolated brush-border enzyme activities. *Chem Biol* ; 147: 259-271.

V

- **Volhard et schore.** (1999).traité de chimie organique, de Boeck université.

W

- **Weakberker, G and Cory, J.G.** (1988): Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione depleted mouse leukemia L 1210 cells in vitro. *Concerletteres*; 40: 275-264.
- **Woldron, H. A.** (1966). The anemia of lead poisoning :a review .*Brit.J ind* ;23:83-100.