

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



جامعة باجي مختار - عنابة  
UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR - ANNABA

FACULTÉ DES SCIENCES  
DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE  
LABORATOIRE DE BIOCHIMIE ET MICROBIOLOGIE APPLIQUÉES

## THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT LMD  
3<sup>ème</sup> Cycle  
Spécialité : Biochimie

### THÈME

**L'effet protecteur du curcuma (*Curcuma longa*) contre les perturbations métaboliques, oxydatives et histologiques induites par le cadmium chez le rat *Albinos wistar***

Présentée par: M<sup>me</sup> Boulanouar Mouna

Président	AOUADI Saoudi	Pr.	Univ. Badji Mokhtar - Annaba
Directrice de thèse	AOUACHERI Ouassila	Pr.	Univ. Badji Mokhtar - Annaba
Membres de Jury			
Examineurs	NECIB Youcef	Pr.	Univ. Frères Mentouri - Constantine 1
	LALAOUI Korrichi	Pr.	Univ. Frères Mentouri - Constantine 1
	BENSOLTANE Samira	Pr.	Univ. Badji Mokhtar - Annaba

Année Universitaire: 2023 / 2024

## Dédicaces

Je dédie cet humble effort et ma profonde gratitude à ma chère mère pour lui démontrer ma gratitude pour sa patience et son assistance durant toutes les années de mes études. Qu'Allah lui accorde une bonne santé. Que Dieu bénisse l'âme de mon défunt père. Je veux rendre hommage aux personnes les plus chères de ma vie, celles qui sont toujours à mes côtés: mes frères (**Youcef, Ouassim, Charef eddine**) et mon fils (**Ahmed**), je veux qu'ils sachent que leurs encouragements étaient une grande partie de ma réussite...

A toutes mes amies et collègues du laboratoire de Biochimie et Microbiologie appliquées, département de Biochimie, UBMA, Algérie.

## Remerciements

Je voudrais tout d'abord remercier **Allah** Tout-Puissant de m'avoir donné la force et la foi durant tout ce chemin.

Je remercie sincèrement ma directrice de thèse qui m'a proposé ce sujet et m'a guidé tout au long de la réalisation de la thèse: **Pr. Aouacheri Ouassila**. Je suis très reconnaissante pour sa confiance et son aide enthousiaste. Ses suggestions pertinentes m'ont permis de mener à bien ce projet.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude aux membres de jury qui ont aimablement accepté de faire partie de mon jury de soutenance.

Je remercie **Pr. Aouadi S.** (Université Badji Mokhtar-Annaba) de m'avoir honoré par la présidence du jury.

Ma grande considération au **Pr. Necib Y.** (Université Frères Mentouri - Constantine) d'avoir accepté l'examination de ce modeste travail de recherche.

Mon grand respect pour le **Pr. Lalaoui K.** (Université Frères Mentouri - Constantine 1) d'avoir bien voulu juger cette modeste étude scientifique.

Mes sentiments de reconnaissance vont au **Pr. Bensoltane S.** (Université Badji-Mokhtar-Annaba) d'avoir accepté d'examiner le travail exposé dans ma thèse de doctorat

J'exprime ma profonde gratitude et ma préoccupation à mon professeur, le **Pr. Saka Saad**, qui m'a enseigné et guidé tout au long de ces années d'études. Merci pour votre aide précieuse et votre

précieuse coopération.

Mon infinie gratitude à Mme Rym Benchikh, ingénieure au Laboratoire d'Ecophysiologie Animale, pour ses nombreuses prestations lors de la réalisation de la partie pratique de ce travail, et à qui j'adresse ici mes plus chaleureux remerciements.

Un grand merci pour le staf du laboratoire d'Anatomie et Pathologie de l'hôpital El Bouni d'Annaba (Algérie) pour l'exécution de mes coupes histologiques.

Un énorme merci s'adresse à mes copines qui ont toujours été présentes lors de la décapitation des rats et qui m'ont aidé quand j'en avais besoin, notamment: Malika, Narjess, Rym, Amira, et je les remercie également pour les bons moments que nous avons partagés ensemble.

## Liste des Figures

Titre	Page
<b>Figure 1:</b> Le stress oxydant	3
<b>Figure 2:</b> Les principales réactions générant les ERO	5
<b>Figure 3:</b> Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques	7
<b>Figure 4:</b> Activités antioxydantes du glutathion, de la vitamine C et de la vitamine E	9
<b>Figure 5 :</b> Structure chimique de la vitamine E	10
<b>Figure 6 :</b> Structure chimique et classification des six principaux caroténoïdes alimentaires	11
<b>Figure 7:</b> Structure chimique de la vitamine C	11
<b>Figure 8:</b> Polyphénols à effets thérapeutiques	12
<b>Figure 9:</b> Les principaux sites cellulaires de productions des ERO	13
<b>Figure 10:</b> Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés	15
<b>Figure 11:</b> Oxydation des protéines	16
<b>Figure 12:</b> Principales formes de dommages de l'ADN	17
<b>Figure 13 :</b> Aspect du Cadmium	18
<b>Figure 14:</b> La plante <i>Curcuma longa</i>	26
<b>Figure 15 :</b> Rhizomes de curcuma	26
<b>Figure 16:</b> Structure chimique des curcuminoïdes	27
<b>Figure 17 :</b> Schéma du protocole expérimental	34
<b>Figure 18 :</b> Quelques étapes de l'étude histologique	43
<b>Figure 19:</b> Variations du rapport hépatocorporel (%) chez les rats témoins et traités par le Chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> après 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	46
<b>Figure 20:</b> Variations du rapport rénocorporel (%) chez les rats témoins et traités par le Chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> après 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	46

<b>Figure 21:</b> Variations du rapport splénoCorporel (%) chez les rats témoins et traités par le Chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> après 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	47
<b>Figure 22:</b> Variations du rapport cardiocorporel (%) chez les rats témoins et traités par le Chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> après 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	47
<b>Figure 23:</b> Variation du nombre des globules rouges ( $10^6/\mu\text{L}$ ) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	49
<b>Figure 24 :</b> Variation du taux d'hémoglobine (g/dl) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	49
<b>Figure 25:</b> Variation du pourcentage de l'hématocrite chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	50
<b>Figure 26:</b> Variation du taux des globules blancs ( $10^3/\mu\text{L}$ ) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	50
<b>Figure 27:</b> Variation du taux des lymphocytes ( $10^3/\mu\text{L}$ ) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	51
<b>Figure 28:</b> Variation du taux des plaquettes ( $10^3/\mu\text{L}$ ) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	51
<b>Figure 29:</b> Variation de la concentration sérique des protéines totales (mg/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	53
<b>Figure 30:</b> Variation de la concentration sérique de l'urée (g/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	53
<b>Figure 31:</b> Variation de la concentration sérique de la créatinine (mg/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	54
<b>Figure 32:</b> Variation de la concentration sérique de l'acide urique (mg/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30	54

jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	
<b>Figure 33:</b> Variation de la concentration sérique du glucose (g/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	55
<b>Figure 34:</b> Variation de l'activité de l' $\alpha$ -Amylase (UI/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	56
<b>Figure 35 :</b> Variation de l'activité de la lipase (U/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	56
<b>Figure 36:</b> Variation de l'activité de l'alanine amino-transférase (UI/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	58
<b>Figure 37:</b> Variation de l'activité de l'aspartate aminotransférase (UI/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	58
<b>Figure 38:</b> Variation de l'activité de la phosphatase alcaline (UI/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	59
<b>Figure 39:</b> Variation de l'activité de la lactate déshydrogénase (UI/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	59
<b>Figure 40:</b> Variation de la concentration de la bilirubine totale (mg/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	60
<b>Figure 41:</b> Variation de la concentration de la bilirubine directe (mg/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	60
<b>Figure 42:</b> Variation du taux des triglycérides (g/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	61

<b>Figure 43:</b> Variation du taux de cholestérol (g/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	62
<b>Figure 44 :</b> Teneur en glutathion tissulaire (nM/mg prt) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	63
<b>Figure 45:</b> Teneurs hépatiques et rénales en malondialdéhyde (nM/mg tissu) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	63
<b>Figure 46:</b> Activité de la glutathion peroxydase ( $\mu$ M GSH/mg protéines) hépatique et rénale chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	64
<b>Figure 47:</b> Activité de la glutathion S-transférase (nM GSH/min/mg protéines) hépatique et rénale chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	65
<b>Figure 48:</b> Activité de la catalase ( $\mu$ M H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /min/mg protéines) hépatique et rénale chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours (moyenne $\pm$ SEM, n=10)	66
<b>Figure 49:</b> Coupes histologiques hépatiques des rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours	67
<b>Figure 50:</b> Coupes histologiques rénales des rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le <i>Curcuma longa</i> pendant 30 jours	68

## Liste des tableaux

Titre	Page
<b>Tableau 1:</b> Principales ERO radicalaires et non-radicalaires	4
<b>Tableau 2 :</b> Propriétés physico-chimiques du cadmium	18
<b>Tableau 3:</b> Les constituants chimiques du <i>Curcuma longa</i> et leurs pourcentages	27
<b>Tableau 4:</b> Composition du régime alimentaire pour un 1 kg d'aliment	32

## Liste des abréviations

<b>ADN</b>	: Acide désoxyribonucléiques
<b>ALAT</b>	: Alanine aminotransférase
<b>ArOH</b>	: $\alpha$ -tocophérol
<b>ArO•</b>	: Tocopheroxyle lipidique
<b>ASAT</b>	: Aspartate aminotransférase
<b>CAT</b>	: Catalase
<b>CCMH</b>	: Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine
<b>CdCl<sub>2</sub></b>	: Clorure de cadmium
<b>CDNB</b>	: 1-chloro, 2,4-dinitrobenzène
<b>Cu/Zn-SOD</b>	: Superoxyde dismutase
<b>DTNB</b>	: Acide 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoïque) ou réactif d'Ellman
<b>EDTA</b>	: Ethylène diamine tétra acétique
<b>ERO</b>	: Espèce réactive de l'oxygène
<b>Fe<sup>2+</sup></b>	: Ion ferreux
<b>Fe<sup>3+</sup></b>	: Ion ferrique
<b>GB</b>	: Globule blanc
<b>GR</b>	: Globule rouge
<b>GSH</b>	: Glutathion réduit
<b>GSH-Px</b>	: Glutathion peroxydase
<b>GSH-R</b>	: Glutathion réductase
<b>GSSG</b>	: Glutathion oxydé
<b>Hb</b>	: Hémoglobine
<b>HT</b>	: Hématocrite
<b>HO°</b>	: Radical hydroxyle
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Peroxyde d'hydrogène
<b>LDH</b>	: Lactate déshydrogénase
<b>LDL</b>	: Lipoprotéines de densité légère
<b>LOO•</b>	: Radical peroxyde lipidique
<b>LOOH</b>	: Hydroperoxyde lipidique
<b>LY</b>	: Lymphocyte

<b>MDA</b>	: Malondialdéhyde
<b>Mn-SOD</b>	: Superoxyde dismutase
<b>MO</b>	: Monocytes
<b>MT</b>	: Métallothionéine
<b>NAC</b>	: N-acetylcystéine
<b>NADPH</b>	: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit
<b>NO•</b>	: Monoxyde d'azote
<b>RL</b>	: Radical libre
<b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b>	: Oxygène singulet
<b>•OH</b>	: Radical hydroxyle
<b>O<sub>2</sub>•-</b>	: Anion superoxyde
<b>PAL</b>	: Phosphatase alcaline
<b>PLT</b>	: Plaquettes
<b>ROO°</b>	: Radicaux peroxydes
<b>ROH</b>	: Alcool
<b>ROOH</b>	: Hydroperoxyde lipidique
<b>ROS</b>	: Reactive oxygen species
<b>Se</b>	: Sélénium
<b>Se-Cys</b>	: Sélénocystéine
<b>-SH</b>	: Groupement sulfhydryle
<b>SOD</b>	: Superoxyde dismutase
<b>TBA</b>	: Acide thiobarbéturique
<b>TCA</b>	: Acide trichloroacétique
<b>TQ</b>	: Thymoquinone

# Résumé

## Résumé

Le cadmium (Cd) est un métal lourd toxique qui peut causer de graves problèmes de santé chez l'homme et peut être associé à diverses maladies humaines liées au stress oxydatif. Cette étude visait à évaluer l'effet antioxydant du curcuma (*Curcuma Longa*) sur le stress oxydatif induit par le cadmium ; et sa modulation des troubles biochimiques, hématologiques et histologiques suite à une toxicité induite par le cadmium chez le rat. Quarante rats mâles de la race albinos Wistar dévisés en quatre groupes. Ils ont été traités avec du chlorure de cadmium ( $\text{CdCl}_2$ ) par voie orale et/ou un régime contenant 2 % de curcuma pendant 30 jours. Le groupe (T) est le groupe témoin et mange normalement ; le groupe (0-C) reçoit un régime expérimental contenant 2 % de curcuma ; le groupe Cd-0 reçoit du chlorure de cadmium par voie orale (5 mg/kg) avec un régime normal ; le groupe (Cd- C) a reçu une dose orale de cadmium (5 mg/kg) et un régime expérimental contenant 5 % de curcuma. Le traitement au chlorure de cadmium a induit des effets toxiques hématologiques avec des diminutions significatives de tous les paramètres hématologiques ( $p \leq 0,001$ ). Cependant, une augmentation significative des paramètres rénaux ( $p \leq 0,001$ ) a indiqué une néphrotoxicité, et une augmentation significative ( $p \leq 0,001$ ) des activités des enzymes hépatiques et biliaires ainsi qu'une perturbation du profil lipidique ont indiqué une hépatotoxicité. De plus, le cadmium a également présenté des effets pro-oxydants, se manifestant par des réductions significatives des marqueurs tissulaires (niveaux de GSH, activités enzymatiques du GSH-Px et du CAT) dans les tissus hépatiques et rénaux ( $p \leq 0,001$ ). Cet effet pro-oxydant s'est également manifesté par une augmentation significative des taux de MDA et de l'activité enzymatique GSH-ST dans ces mêmes granulocytes ( $p \leq 0,001$ ). Les études histologiques ont révélé des changements pathologiques dans les tissus hépatiques et rénaux observés en microscopie optique. Cependant, l'ajout de curcuma à l'alimentation des rats a montré une réduction des effets toxiques du cadmium en améliorant et en modulant les valeurs de tous les paramètres étudiés ainsi que les observations histologiques citées précédemment. Ces résultats indiquent que le curcuma possède une forte propriété antioxydante, est capable de minimiser le stress oxydatif causé par le chlorure de cadmium et a un effet protecteur global en diminuant les effets toxiques de ce dernier.

**Mots clés:** Toxicité, Stress oxydant, Chlorure de cadmium, *Curcuma longa*, Anti oxydant, Perturbations biochimiques, Histologie.

## Abstract

Cadmium (Cd) is a toxic heavy metal that can induce serious health problems in humans and is possibly implicated in several human diseases related to oxidative stress. This study was designed to evaluate the antioxidant action of turmeric (*Curcuma longa*) against cadmium-induced oxidative stress; as well as the modulation of the biochemical, hematological and histological disturbances obtained following a toxicity induced by Cd in the rat. Forty male Albino wistar rats were divided into four groups. They underwent oral treatment for 30 days with cadmium chloride ( $\text{CdCl}_2$ ) and/or a diet containing 2% turmeric. Group (T) served as a control and received a normal diet; group (0-C) received an experimental diet with 2% turmeric; the group (Cd-0) received an oral dose of cadmium chloride (5 mg/kg) with a normal diet; the (Cd-C) group received an oral dose of cadmium chloride (5 mg/kg) with an experimental diet containing 5% turmeric. Cadmium chloride treatment caused a hematotoxic effect observed by a significant decrease ( $p \leq 0.001$ ). of all haematological parameters, nephrotoxic characterized by a significant increase ( $p \leq 0.001$ ) in renal assessments, hepatotoxic found by a significant increase ( $p \leq 0.001$ ) in hepatic and biliary enzymatic activity, as well as a disturbance in the observed lipid profile by a significant increase in its parameters. In addition, cadmium has a pro-oxidant effect expressed by a significant decrease ( $p \leq 0.001$ ) in the level of tissue GSH, the enzymatic activity of GSH-Px and CAT in both hepatic and renal tissues. This pro-oxidant action was also shown by a significant increase ( $p \leq 0.001$ ) in the level of MDA and in the enzymatic activity of GSH-ST in these two organs. The histological study revealed pathological changes in hepatic tissue and kidney which were observed under light microscope. The addition of turmeric in the food of the rats revealed a reduction in the toxic effect of cadmium by improving all the parameters studied as well as the histological observations previously cited. These results suggest that turmeric has a strong antioxidant effect and has a general protective effect by reducing the intensity of oxidative stress caused by cadmium and reducing the toxic effects caused by cadmium chloride doing.

**Keywords:** Toxicity, Oxidative stress, Cadmium chloride, *Curcuma longa*, Anti oxidant, Biochemical disturbances, Histology

## المخلص

الكادميوم (Cd) هو معدن ثقيل سام يمكن أن يسبب مشاكل صحية خطيرة لدى البشر وربما يكون مسؤولاً عن العديد من الأمراض البشرية المتعلقة بالإجهاد التأكسدي. أجريت هذه الدراسة لتقييم التأثير المضاد للأكسدة للكرم (كرم لونجا) ضد الإجهاد التأكسدي الناجم عن كلوريد الكادميوم. وكذلك تعديل الاضطرابات الكيميائية الحيوية والدموية والنسجية التي تم الحصول عليها بعد السمية التي يسببها الكادميوم في الفئران. تم تقسيم أربعين جرذان ألبينو ويستار إلى أربع مجموعات. خضعوا للعلاج عن طريق الفم لمدة 30 يوماً باستخدام كلوريد الكادميوم (CdCl<sub>2</sub>) و / أو نظام غذائي يحتوي على 2 ٪ من الكرم. عملت المجموعة (T) كعنصر شاهد وتلقت نظاماً غذائياً عادياً ؛ تلقت المجموعة (Cur-0) نظاماً غذائياً تجريبياً يحتوي على 2 ٪ من الكرم ؛ تلقت المجموعة (Cd-0) جرعة فموية من الكادميوم (5 مجم / كجم) مع نظام غذائي عادي ؛ تلقت مجموعة (Cd-C) جرعة فموية من الكادميوم (5 مجم / كجم) مع نظام غذائي تجريبي يحتوي على 5٪ كرم. تسبب علاج الكادميوم في تأثير سام للدم لوحظ من خلال انخفاض كبير ( $P \leq 0.001$ ). عند جميع المؤشرات الدموية ، السمية الكلوية التي تتميز بزيادة معنوية ( $p \leq 0.001$ ) في المؤشرات الكلوية ، سمية كبدية وجدت من خلال زيادة كبيرة ( $p \leq 0.001$ ) في النشاط الأنزيمي الكبدي والصفراوي ، بالإضافة إلى اضطراب في المؤشرات الدموية بواسطة زيادة كبيرة في معالمها. بالإضافة إلى ذلك ، كلوريد الكادميوم له تأثير مؤكسد معبر عنه بانخفاض كبير ( $p \leq 0.001$ ) في مستوى GSH النسيجي ، والنشاط الأنزيمي لـ GSH-Px و CAT في الأنسجة الكبدية والكلوية. تم إظهار هذا الإجراء المؤيد للأكسدة أيضاً من خلال زيادة كبيرة ( $p \leq 0.001$ ) في مستوى MDA وفي النشاط الأنزيمي لـ GSH-ST في هذين التسيجين. أظهرت الدراسة النسيجية تغيرات مرضية في أنسجة الكبد والكلية لوحظت تحت المجهر الضوئي. أظهرت إضافة الكرم في غذاء الفئران انخفاضاً في التأثير السام لكلوريد الكادميوم من خلال تحسين جميع المؤشرات المدروسة وكذلك الملاحظات النسيجية المذكورة سابقاً. تشير هذه النتائج إلى أن الكرم له نشاط مضاد للأكسدة قوي ، والذي يمكن أن يخفف من شدة الإجهاد التأكسدي الناجم عن كلوريد الكادميوم ، بالإضافة إلى تأثير وقائي عام يقلل من التأثيرات السامة التي يسببها هذا المعدن.

**الكلمات المفتاحية:** السمية ، الإجهاد التأكسدي ، كلوريد الكادميوم ، كرم لونجا ، مضادات الأكسدة ، الاضطرابات البيوكيميائية ، علم الأنسجة

# Sommaire

## Partie bibliographique

Introduction.....	1
<b>Chapitre 1: Le stress oxydant</b>	
1.1 Définition du stress oxydant.....	3
1.2 Les radicaux libres.....	3
1.2.1 Définition des radicaux libres.....	3
1.2.2 Oxygène, espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	4
a/ Radical superoxyde ( $O_2^{\square -}$ ).....	4
b/ Peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ).....	4
c/ Radical hydroxyl.....	5
d/ D'autres espèces réactives de l'oxygène .....	5
1.3 Les antioxydants.....	6
1.3.1 Définition des antioxydants.....	6
1.3.2 Différents types des antioxydants.....	6
1.3.2.1 Le système antioxydant enzymatique.....	6
a/ Les superoxydes dismutases (SODs).....	7
b/ La catalase.....	7
c/ La glutathion peroxydase (GSH-Px).....	8
d/ La glutathion S-transférases (GSH-ST).....	8
1.3.2.2 Le système antioxydant non enzymatique.....	8
a/ Le glutathion réduit (GSH).....	9
b/ La vitamine E.....	9
c/ La vitamine A.....	10
d/ La vitamine C.....	11
e/ Les polyphénols.....	11
f/ Les oligoéléments.....	12
1.2 Les sources cellulaires des radicaux libres.....	13
1.5 Les effets du stress oxydatif.....	14
1.5.1 La peroxydation lipidique.....	14
1.5.2 L'oxydation des glucides.....	15

1.5.3 L'oxydation des protéines.....	15
1.5.4 L'oxydation de l'ADN.....	16
1.6 Maladies associées au stress oxydatif.....	17

## **Chapitre 2: Le chlorure de cadmium**

2.1 Structure et propriétés physico-chimiques du cadmium.....	18
2.2 Origine et fabrication.....	19
2.3 Utilisations.....	19
2.4 Pollution au cadmium danl'environnement.....	19
2.5 Toxicité du cadmium.....	20
2.6 Toxicocinétique du cadmium.....	20
2.6.1 Absorption et spéciation.....	20
2.6.1.1 Absorption par inhalation.....	20
2.6.1.2 Absorption par ingestion.....	21
2.6.2 Transport et distribution du Cd dans l'organisme.....	21
2.6.3 Excrétion.....	22
2.7 Toxicodynamie du cadmium.....	22
2.7.1 Toxicité aigüe.....	22
2.7.1.1 Toxicité par voie digestive.....	22
2.7.1.2 Toxicité par voie respiratoire.....	23
2.7.2 Toxicité chronique.....	23
2.7.2.1 Atteinte pulmonaire.....	23
2.7.2.2 Atteinte osseuse.....	24
2.7.2.3 Atteinte rénale.....	24
2.7.2.4 Génotoxicité du cadmium.....	24

## **Chapitre 3: Le Curcuma longa**

3.1. Origine, histoire et production du curcuma.....	25
3.2. Description botanique du curcuma.....	25
3.3 Composition chimique du curcuma.....	26
3.4. Utilisation du curcuma.....	27
3.4.1 Le curcuma dans la médecine traditionnel.....	28
3.4.2 Le curcuma en cosmétologie.....	28

3.4.3 Le curcuma comme additif alimentaire .....	28
3.5 Propriétés médicinales du curcuma.....	28
3.5.1 Propriétés néphroprotectrices.....	28
3.5.2 Propriétés gastroprotectrices.....	29
3.5.3 Propriétés cardioprotectrices.....	29
3.5.4 Propriétés hépatoprotectrices.....	29
3.5.5 Propriétés antimicrobiennes.....	29
3.5.6 Propriétés antidiabétiques.....	29
3.5.7 Propriétés anti-inflammatoires.....	30

## **Partie pratique**

### **Chapitre 4: Matériels et méthodes**

4.1 Produit chimique.....	31
4.2 Produit végétal.....	31
4.3 Entretien des rats.....	31
4.4 Traitement des rats.....	32
4.5 Prélèvement sanguin.....	32
4.6 Prélèvement des organes.....	33
4.7 Méthodes de dosage.....	35
4.7.1 Dosage des paramètres hématologiques.....	35
4.7.2 Dosage des paramètres biochimiques.....	35
4.7.3 Dosage des paramètres du stress oxydant.....	35
4.7.3.1 Mesure le taux du glutathion (GSH).....	35
4.7.3.2 Mesure l'activité de la glutathion peroxydase (GPx).....	36
4.7.3.3 Mesure de l'activité de la glutathion S-transférase (GST).....	37
4.7.3.4 Mesure l'activité de la catalase (CAT).....	39
4.7.3.5 Dosage des protéines.....	40
4.7.4 Etude histologique.....	40
4.7.4.1 Fixation.....	40
4.7.4.2 Déshydratation.....	41
4.7.4.3 Inclusion et réalisation des blocs.....	41
4.7.4.4 Confection des coupes histologiques.....	41
4.7.4.5 Coloration et montage.....	41

4.7.5 Analyse statistique des résultats.....	44
--	----

## **Chapitre 5: Résultats**

5.1 Résultats de l'étude pondérale.....	45
5.1.1 Influence du traitement sur la croissance corporelle.....	45
5.1.2 Influence du traitement sur les rapports organocorporels.....	45
5.2 Résultats de l'étude hématologique.....	48
5.3 Résultats de l'étude biochimique.....	52
5.3.1 Influence du traitement sur la fonction rénale.....	52
5.3.2 Influence du traitement sur le bilan pancréatique.....	55
5.3.2 Influence du traitement sur le bilan hépatique.....	57
5.3.4 Influence du traitement sur le bilan lipidique.....	61
5.4 Résultats des paramètres du stress oxydant.....	62
5.5 Résultats de l'étude histologique.....	67
5.5.1 Etude histologique hépatique et rénale.....	67

## **Chapitre 6: Discussion**

Discussion.....	69
Conclusion et perspectives.....	75
Références bibliographiques.....	78
Annexes.....	90



# Introduction

## Introduction

La pollution de l'environnement est considérée comme le plus grand crime de l'homme contre lui-même car la pollution de l'écosystème par les effluents industriels, agricoles et d'eaux usées entraîne la contamination de l'air, des aliments et de l'eau par certains agents toxiques tels que les métaux lourds, qui constituent une menace publique majeure (Sharma et Ahuja, 2019). Plusieurs métaux lourds peuvent pénétrer simultanément dans le corps humain par l'air, l'eau et/ou les aliments. Une fois à l'intérieur du corps, les métaux lourds ne sont pas facilement métabolisés ou excrétés; ils s'accumulent rapidement, entraînant une augmentation de leur concentration (Kenston *et al.*, 2018). Ils sont considérés comme des éléments très nocifs, représentant une préoccupation mondiale importante, en raison de leurs niveaux de toxicité élevés (Tchounwou *et al.*, 2012).

Le cadmium (Cd) est l'un des nombreux métaux lourds toxiques qui n'ont pas de fonction physiologique connue dans l'organisme. Le danger pour la santé lié à l'exposition au cadmium est reconnu depuis longtemps, tant sur le lieu de travail qu'en dehors (Kukongviriyapan *et al.*, 2016). Ce métal est l'un des métaux lourds toxiques et sa concentration accrue dans les sols agricoles est connue pour provenir de l'application d'engrais phosphatés, de boues d'épuration, d'eau et de pesticides (Vijaya et Sharma, 2018). Le cadmium est un métal lourd hautement toxique et peut gravement endommager divers organes et systèmes biochimiques. Il peut induire des intoxications sévères, aiguës et surtout chroniques (Kumar *et al.*, 2019). L'exposition professionnelle et environnementale au Cd provient de la métallurgie et de l'industrie du plastique, des pigments miniers, des stabilisants chimiques, des revêtements métalliques et de la production de batteries. Les terres agricoles et les aliments contaminés par le Cd sont une grande source d'exposition au Cd. Ce métal peut également être trouvé dans la fumée de tabac (Branca *et al.*, 2020). Une fois absorbé, le Cd est efficacement retenu dans le corps humain, où il s'accumule tout au long de la vie avec une demi-vie de 25 à 30 ans (Genchi *et al.*, 2020). Le Cd provoque la peroxydation des lipides membranaires, la dégradation du système de défense antioxydant, l'apparition d'inflammation, l'altération de la structure des protéines, l'oxydation des acides nucléiques et il affecte négativement le mécanisme de réparation de l'ADN (Unsal *et al.*, 2020). Bien que le mécanisme exacte de leur pathogénicité ne soit pas connu, divers rapports indiquent que l'exposition à ce métal lourd ou son accumulation dans les systèmes de l'organisme peut induire la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), ce qui conduit à l'apparition d'un stress oxydatif (Kumar *et al.*, 2019). De nombreuses études ont établi un lien entre la toxicité du Cd et le stress oxydatif. Plusieurs sources de données indiquent que les espèces réactives de l'oxygène (ERO) formées en interaction avec le cadmium peuvent être responsables

## Introduction

de ses effets toxiques dans de nombreux organes (Kukongviriyapan *et al.*, 2016). Des études antérieures ont révélé que le stress oxydatif induit par l'exposition au Cd provoquait une toxicité dans les reins, le foie, la rate et le système immunitaire (Tang *et al.*, 2019). Le cadmium semble être impliqué dans les réactions de Fenton. Même s'il n'agit pas comme catalyseur dans la réaction de Fenton, il peut produire des ERO en déplaçant indirectement un métal Fenton endogène (par exemple le  $\text{Fe}^{2+}$ ) des protéines, augmentant ainsi la quantité de métaux redox-actifs libres. Le cadmium peut modifier le statut redox cellulaire en réagissant avec des antioxydants exogènes et endogènes, tels que le glutathion GSH (Genchi *et al.*, 2020). Ainsi, les mécanismes de toxicité aiguë du Cd impliquent l'épuisement du glutathion et des groupes sulfhydryles liés aux protéines, entraînant une production excessive de ERO tels que l'ion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et les radicaux hydroxyle (Unsal *et al.*, 2020).

L'utilisation de nutraceutiques et les compléments a gagné en popularité à l'échelle mondiale au cours des dernières décennies en raison de l'intérêt accru pour les produits naturels et leurs avantages potentiels pour la santé (Kotha et Luthria, 2019). La sécurité, l'efficacité et le faible prix des agents antioxydants naturels par rapport aux autres agents thérapeutiques en font un excellent choix dans la prévention et le traitement des toxicités (Elshama *et al.*, 2018). Les antioxydants jouent un rôle important dans l'annulation des effets délétères des radicaux libres, protégeant ainsi non seulement les cellules et les tissus, mais régulant également divers processus pathologiques et physiologiques (Akinyemi et Adeniyi, 2018). *Curcuma longa* Linn est botaniquement apparenté à la famille des Zingibéracées. Le curcuma est une épice obtenue à partir de la racine de curcuma qui possède de multiples propriétés médicinales, notamment antibactériennes, antipaludiques, antivirales, anti-âge, anticancéreuses, anti-Alzheimer, antifongiques, antioxydantes et anti-inflammatoires (Abdel-Shafy *et al.*, 2020). Les bienfaits médicaux du curcuma pourraient être attribués à la présence de principes actifs appelés curcuminoïdes. L'un des composants les plus intéressants des curcuminoïdes est la curcumine (1,7-bis(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1,6heptadiène-3,5-dione) ou diferuloylméthane) (Rathore *et al.*, 2020). En fait, la curcumine est un puissant inhibiteur de divers ERO. Elle présente des effets protecteurs contre les dommages oxydatifs en tant que capteur de radicaux libres et empêche la peroxydation des lipides. La curcumine se lie aux métaux lourds tels que le cadmium et le plomb et a ainsi un effet détoxifiant contre plusieurs métaux lourds (Kumaş *et al.*, 2016).

La présente étude avait pour objectif l'évaluation de deux actions importantes du curcuma. D'une part, notre recherche scientifique à viser la démonstration de l'action antioxydante du curcuma suite à l'état de stress oxydant induit par la toxicité du cadmium. D'autres parts, notre objectif était également de prouver l'effet protecteur du curcuma suite à son action modulatrice des perturbations métaboliques et histologiques causées par l'exposition au cadmium.



# Partie bibliographique

# **Chapitre 1:**

## **Le stress oxydant**

## Chapitre 1 : Le stress oxydant

## 1.1 Définition du stress oxydant

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre le système de défense antioxydant et la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ce déséquilibre résulte soit d'une surproduction d'oxydants, soit de modifications des mécanismes de défense cellulaire. Il peut y avoir des origines endogènes comme une surproduction de prooxydants d'origine inflammatoire, une carence nutritionnelle en antioxydants, ou des origines exogènes comme une exposition environnementale à des facteurs prooxydants comme le tabac, les radiations gamma, les médicaments, les rayons UV, les métaux lourds.....ect. (Christophe, 2011 ; Hassan *et al.*, 2014 ; Phaniendra, 2015), Figure 1.

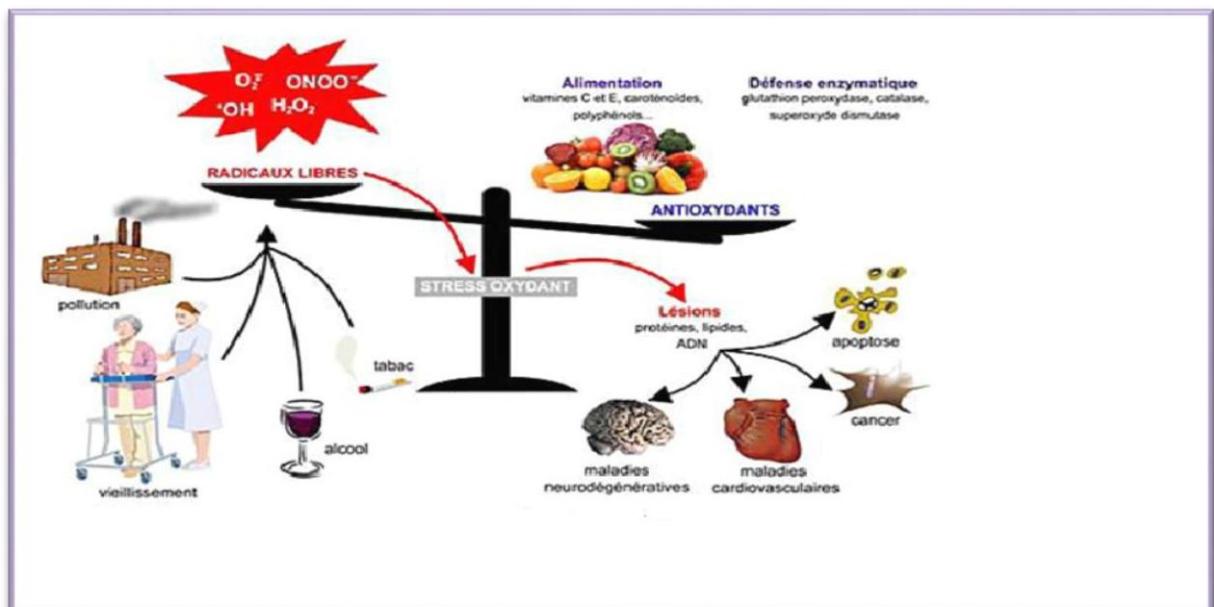


Figure 1 : Le stress oxydant (Durackova *et al.*, 2008)

## 1.2 Les radicaux libres

## 1.2.1 Définition des radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique qui a la particularité de porter un électron célibataire (ou non apparié) sur sa couche externe (Refaie *et al.*, 2014). Cet état lui confère une instabilité énergétique et cinétique, qui lui permet souvent de réagir avec d'autres molécules chimiques qui l'entourent. De nombreux radicaux libres ne sont pas stables et ont une forte réactivité. Ils peuvent donner des électrons ou accepter des électrons provenant d'autres molécules, agissant

ainsi comme agents oxydants ou réducteurs. (Lobo *et al.*, 2010; Quaye, 2012).

**1.2.2 Espèces réactives de l’oxygène (ERO)**

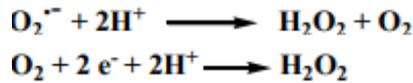
L’énergie apportée par l’alimentation est indispensable pour le fonctionnement de notre organisme. La formation de cette énergie produit environ 2 % des molécules d’oxygène (Edeas, 2005). L’oxygène peut être nocif en raison de ses propriétés oxydantes ; il conduit à la formation de dérivés plus réactifs appelés espèces réactives de l’oxygène (Ichai, 2011). L’ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l’oxygène (ERO). La figure 2 montre les différentes réactions générant les ERO, le tableau 1 illustre les principales ERO radicalaires et non-radicalaires.

**Tableau 1 : Principales ERO radicalaires et non-radicalaires (Migdal, 2011)**

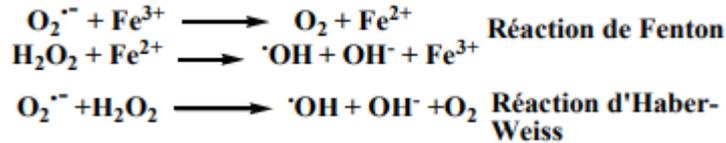
Les radicaux libres	Les non radicaux
<b>Espèces réactives à l’oxygène (ERO)</b>	
Anion superoxyde (O <sub>2</sub> • <sup>-</sup> )	Peroxyde d’hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )
Hydroxyle (HO•)	Peroxyde organique (ROOH)
Hydroperoxyde (HO <sub>2</sub> •)	Peroxynitrite (ONOO <sup>-</sup> )
Peroxyde (RO <sub>2</sub> •)	Acide hypochloreux (HOCl)
Alkoxyde (RO•)	Acide hypobromeux (HOBr)
	Oxygène singulet (O <sub>2</sub> )
<b>Espèces réactives à l’azote (ERA)</b>	
Oxide nitrique (NO•)	Acide nitreux (HNO <sub>2</sub> )
Dioxyde d’azote (NO <sub>2</sub> •)	Trioxyde de diazote (N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )
Radical nitrate (NO <sub>3</sub> •)	Peroxyde d’azote (N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> )

**a/ Radical superoxyde (O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>) :** dans l’organisme une partie de l’oxygène moléculaire peut capter de manière univalente et séquentielle un électron conduisant alors la formation de l’anion superoxyde (O<sub>2</sub> + e<sup>-</sup> → O<sub>2</sub><sup>-</sup>) (Koechlin-Ramonatxo, 2006 ; Al-Mamun, 2007).

**b/ Peroxyde d’hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :** le peroxyde d’hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> qui n’est pas un radical libre peut être formé secondairement à la dismutation de (O<sub>2</sub> •<sup>-</sup>) par la superoxyde-dismutase ou produit par réduction bivalente de l’oxygène grâce à un grand nombre de déshydrogénases, notamment l’acyl CoA déshydrogénase, la NADH déshydrogénase, la xanthine oxydase, ...etc. (Al Ghoulah *et al.*, 2011). Le peroxyde d’hydrogène est également un agent oxydant très réactif et est donc souvent utilisé comme désinfectant et agent de blanchiment. S’il n’est pas détruit rapidement, le peroxyde d’hydrogène peut se décomposer et produire des radicaux hydroxyles, qui attaquent les macromolécules cellulaires (Karp, 2010).



**c/ Radical hydroxyle :** Il est principalement produit par l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène en présence d'ions fer lors de la réaction de Haber-Weiss



Les radicaux hydroxyles sont très réactifs dans les milieux biologiques. Ils sont capables de réagir avec presque tous les composants cellulaires par échange d'électrons, addition de doubles liaisons ou élimination d'atomes d'hydrogène (Quaye, 2012). Le radical hydroxyle est donc un oxydant très puissant, constituant sans doute le radical libre le plus toxique en biologie, et est à l'origine d'une production de radicaux libres « secondaires » après réaction avec différents composés cellulaires (Lacolley, 2007).

**d/ Autres espèces réactives de l'oxygène :** les espèces réactives de l'oxygène comprennent non seulement les radicaux libres oxygénés mais aussi les radicaux libres dérivant d'autres espèces que l'oxygène par exemple l'acide hypochloreux (HClO), le monoxyde d'azote (NO) qui se combine aisément avec le  $\text{O}_2^{\bullet -}$  pour former le peroxynitrite ( $\text{ONOO}^-$ ) (Beaudeau *et al.*, 2006 ; Lobo *et al.*, 2010).

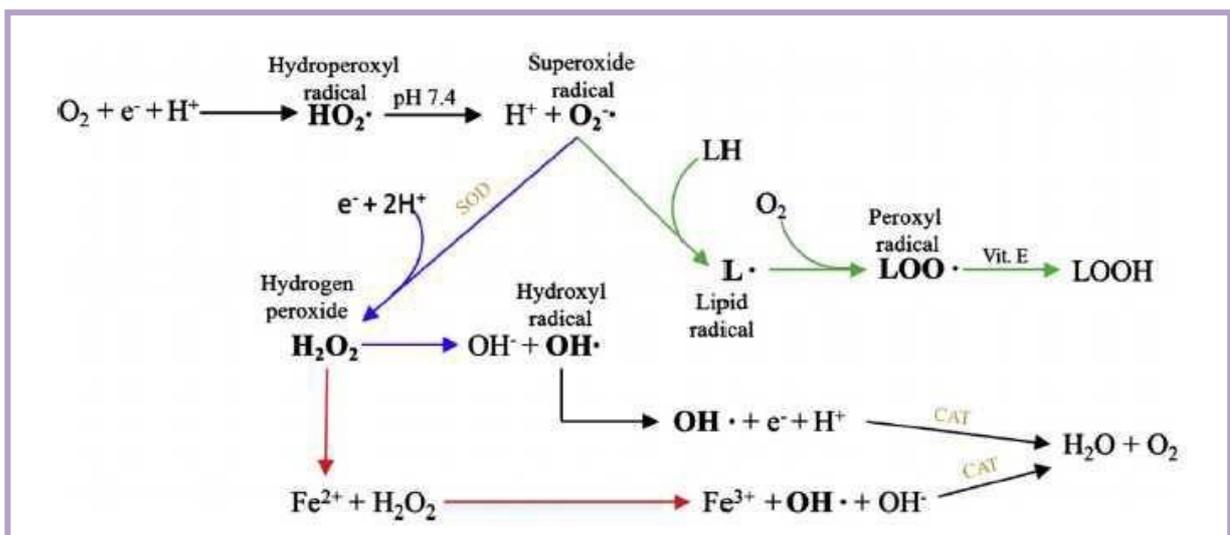


Figure 2: Les principales réactions générant les ERO (Carocho et Ferreira, 2013)

### 1.3 Les antioxydants

#### 1.3.1 Définition des antioxydants

Les antioxydants ont été définis comme des substances qui peuvent empêcher ou ralentir les processus oxydatifs causés par les espèces réactives de l'oxygène (ERO). Les antioxydants se caractérisent par leurs capacités à piéger les radicaux. Ils réagissent tant que donneurs d'hydrogène, ou donneurs d'électrons, ou décomposeurs de peroxyde, ou extincteurs d'oxygène singulet, ou inhibiteurs d'enzymes et chélateurs de métaux (Luczaj *et al.*, 2017). L'homéostasie redox cellulaire est un processus endogène complexe impliquant des enzymes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GSH-Px) et des composés non enzymatiques tels que le glutathion (GSH), les protéines (ferritine, transferrine, céruloplasmine ou encore albumine... etc.). L'homéostasie redox implique également des capteurs de bas poids moléculaire comme l'acide urique, la coenzyme Q et l'acide lipoïque. D'autres antioxydants légers se trouvent dans l'alimentation, tels que les micronutriments, la vitamine E (alpha-tocophérol), la vitamine C (acide ascorbique) et le bêta-carotène (Lobo *et al.*, 2010 ; Pisoschi et Pop, 2015 ; Sarangarajan *et al.*, 2017).

#### 1.3.2 Différents types des antioxydants

Les antioxydants peuvent être divisés en deux grandes catégories: les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques. Certains de ces antioxydants sont endogènes et comprennent des enzymes, de petites molécules et des cofacteurs enzymatiques. De nombreux antioxydants non enzymatiques sont d'origines alimentaires (Ratnam *et al.*, 2006).

##### 1.3.2.1 Le système antioxydant enzymatique

Dans la défense antioxydante, il existe plusieurs enzymes endogènes, ce sont: la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase, la peroxyrédoxine, l'hème oxygénase, la glutathion peptide transférase, la thiorédoxine réductase ou la thiorédoxine peroxydase. La plupart de ces enzymes utilisent le donneur réducteur équivalent NADPH, qui, avec le glutathion, constitue un site de défense antioxydant (Favier, 2003 ; Laukkanen *et al.*, 2016), (Figure 3).

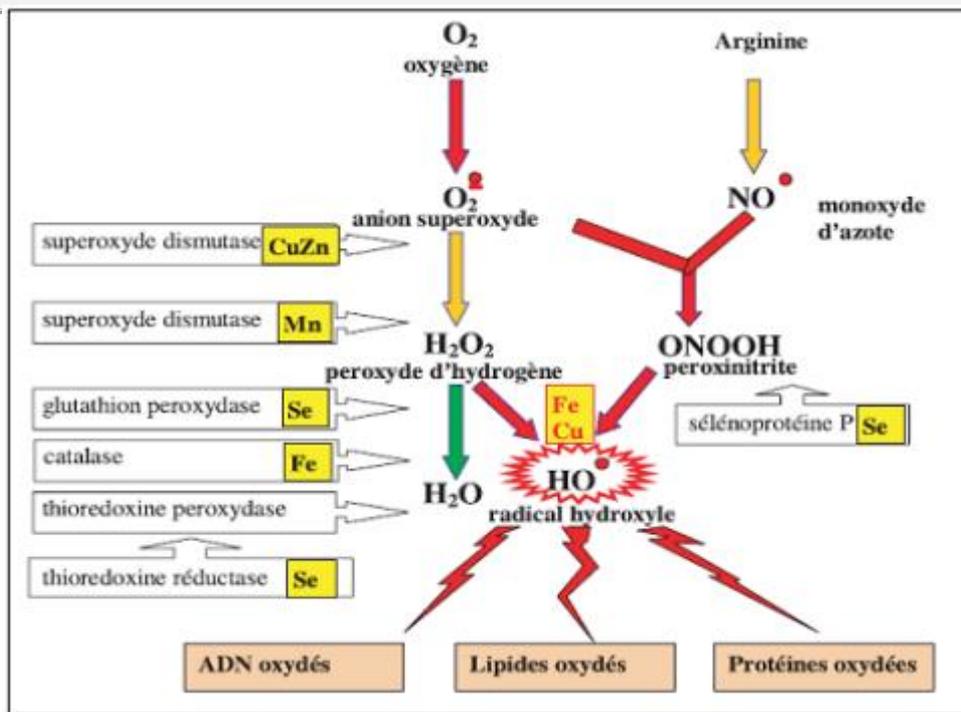
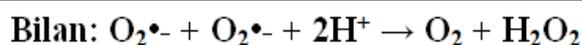


Figure 3 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et leurs cofacteurs métalliques (Favier, 2003)

**a/ Les superoxydes dismutases (SODs):** Il s'agit d'une famille d'enzymes étroitement apparentées qui catalysent la décomposition de l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) en oxygène ( $O_2$ ) et peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) (Lobo *et al.*, 2010). Il existe trois formes de SOD chez l'homme: la Cu/Zn-SOD cytosolique, la Mn-SOD mitochondriale et la SOD extracellulaire (EC-SOD) (Zelko *et al.*, 2002 ; Laukkanen *et al.*, 2016). La dismutation du superoxyde se produit aux centres du cuivre, du manganèse ou du fer. La SOD détruit l' $O_2^{\bullet-}$  par oxydation séquentielle et réduction des ions de métaux de transition dans le site actif dans un mécanisme de type ping-pong avec une cinétique très élevée (Denisov et Afanasiev, 2005; Krishnamurti et Wadhvani, 2012).

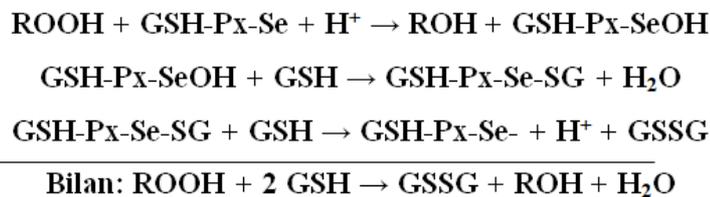


**b/ La catalase :** c'est l'un des antioxydants naturels les plus connus et les plus puissants (Ratnam *et al.*, 2006). Cette enzyme se localisant particulièrement à l'intérieur des peroxysomes et des mitochondries (Murray *et al.*, 2013), est distribuée dans tout le corps mais plus active dans le foie, puis dans les érythrocytes et les poumons (Ratnam *et al.*, 2006). La catalase se compose de quatre sous-unités protéiques, ces dernières contiennent un fragment hémique avec  $Fe^{3+}$  associé

au site actif. Chaque molécule est généralement protégée de l'inactivation du peroxyde d'hydrogène par la liaison de la molécule  $\text{NADPH}^+\text{H}^+$  (Murray *et al.*, 2013). En réagissant avec  $\text{H}_2\text{O}_2$ , cette réaction donne naissance à des molécules d'oxygène et d'eau (Powers et Jackson, 2008).



**c/ La glutathion peroxydase (GSH-Px):** la glutathion peroxydase (GSH-Px, EC: 1.11.1.19) est une enzyme qui nécessite du sélénium pour son action (séléno-dépendante) puisqu'elle contient du sélénocystéine au site actif et agit conjointement avec l'augmentation du glutathion réduit (GSH) (Ganther, 2014). La GSH-Px est présente à des concentrations élevées dans les cellules et catalyse la conversion du peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ou des peroxydes organiques (ROOH) en eau ou en alcool (Mukherjee *et al.*, 2010). Elle entre également en concurrence avec la catalase pour le peroxyde d'hydrogène en tant que substrat et constitue la principale source de protection contre les faibles niveaux de stress oxydatif. L'enzyme GSH-Px élimine le  $\text{H}_2\text{O}_2$  en utilisant le  $\text{H}_2\text{O}_2$  pour oxyder le glutathion réduit (GSH) en glutathion oxydé (GSSG) (Sisein, 2014).



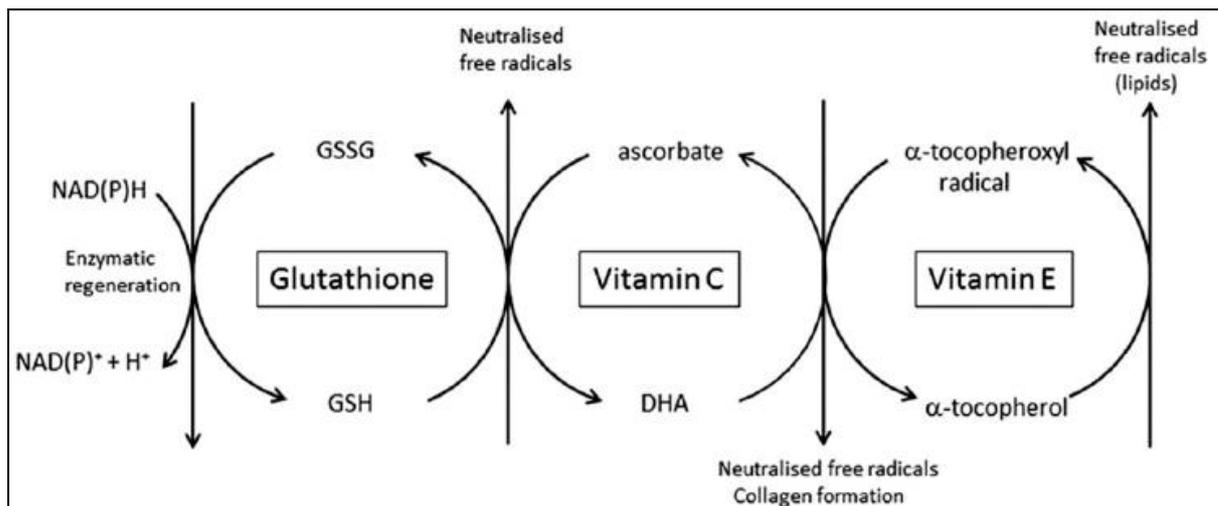
**d/ La glutathion S-transférases (GSH-ST):** la GSH-ST est une enzyme nécessaire pour la détoxification des protéines électrophiles xénobiotiques ou des métabolites électrophiles (Singhal *et al.*, 2015). La GSH-ST régule également la biosynthèse et le transport intracellulaire hormonal. Sur la base de la similarité des séquences et de la spécificité du substrat, les GSH-ST sont classées en au moins dix sous-familles : alpha, delta, epsilon, kappa, mu, pi, sigma, thêta, zêta et oméga (Kim *et al.*, 2017). La protection contre la peroxydation des lipides est principalement assurée par la GSH-ST de classe alpha (Sharma *et al.*, 2004).

### 1.3.2.2 Le système antioxydant non enzymatique

La défense antioxydante se compose d'antioxydants synthétisés dans l'organisme appelés endogènes et d'autres antioxydants fournis par les aliments appelés exogènes comme par exemple la vitamine C, la vitamine E, les caroténoïdes, l'ubiquinone, le coenzyme Q, les

flavonoïdes, le glutathion et l'acide lipoïque. Ces antioxydants piègent les radicaux libres et les électrons individuels, assurant ainsi leur conversion en molécules ou ions stables (Pincemail *et al.*, 2002 ; Kurutas, 2015).

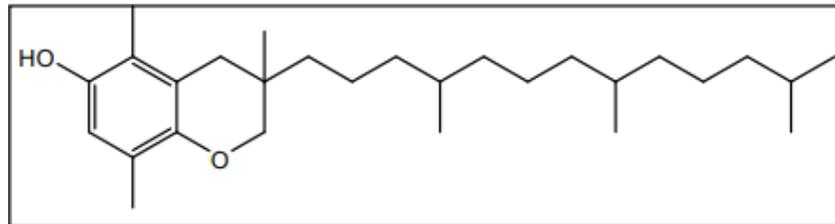
**a/ Le glutathion réduit (GSH):** le GSH se compose à partir d'un tripeptide ( $\gamma$ -Glu-Cys-Gly ou  $\gamma$ -glutamate-cystéine-glycine). Le glutathion neutralise les ERO ( $H_2O_2$ , peroxyde d'azote, peroxydes lipidiques...etc.), par le mécanisme de la GSH-Px formant le glutathion oxydé (GSSG), qui est l'union de deux molécules de GSH (Duris *et al.*, 2009 ; Birk *et al.*, 2013). Le GSH est un antioxydant peptidique largement distribué dans le corps qui joue un rôle important. Il protège les tissus et les protéines portant des ions rédox-actifs tels que l'hémoglobine, la transferrine, la ferritine et l'albumine. Le GSH régénère les vitamines C et E oxydées (Figure 4). Cette détoxification se fait au niveau du foie et peut lier les métaux toxiques (mercure, arsenic...etc.) (Kurutas, 2015 ; Nimse et Pal, 2015).



**Figure 4 : Activités antioxydantes du glutathion, vitamine C et E (Pullar *et al.*, 2017)**

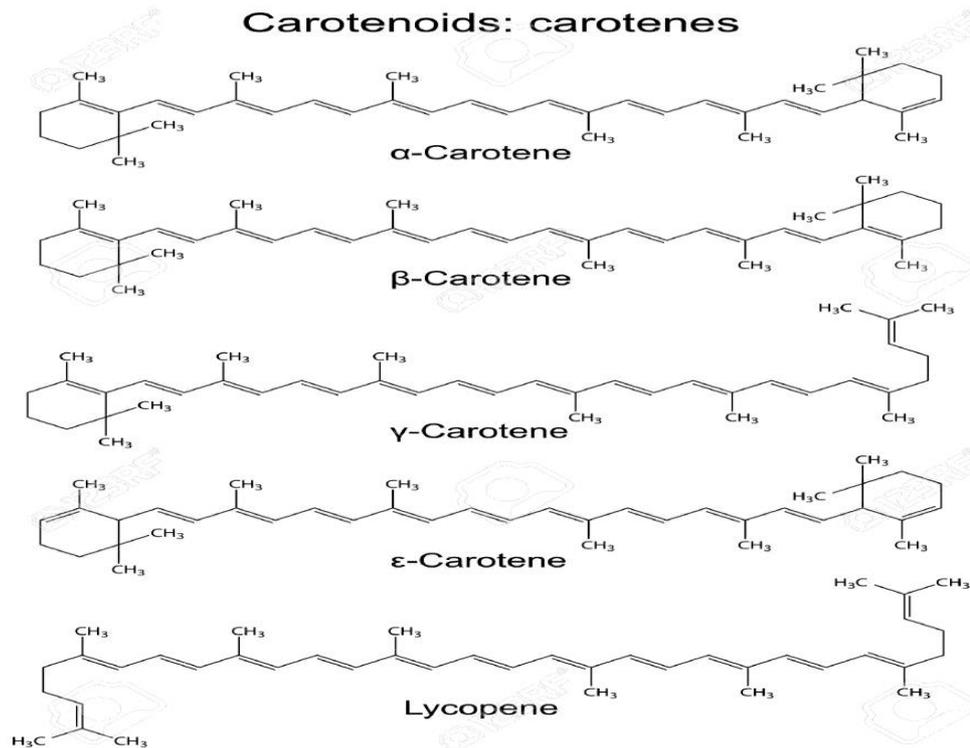
**b/ La vitamine E :** c'est un terme général désignant une famille de composés chimiquement apparentés subdivisés en deux sous-groupes appelés tocophérols et tocotriénols. De plus, les tocophérols et les tocotriénols ont des formes  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ , nommées en fonction du nombre et de la position des groupes méthyle sur le cycle chromanol (Shils *et al.*, 2006). La vitamine E (Figure 5) est une vitamine liposoluble présente dans les membranes cellulaires et les lipoprotéines circulantes (Denisov et Afanas'ev, 2005). Parmi les quatre tocophérols et les quatre tocotriénols présents dans les aliments, seul l' $\alpha$ -tocophérol répond aux besoins humains en vitamine E. Ce dernier piège les radicaux peroxyde produits lors de la peroxydation des lipides,

aboutissant à des radicaux tocophérols (Van Stijn *et al.*, 2008). L' $\alpha$ -tocophérol (ArOH) réagit avec les radicaux peroxydes lipidiques pour former des radicaux hydroperoxydes lipidiques et des tocophéroxydes (ArO $\bullet$ ), bloquant ainsi la peroxydation lipidique (Gulcin, 2012 ; Joshi et Pratic, 2012).



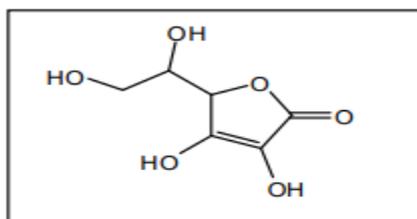
**Figure 5 : Structure chimique de la vitamine E (Joshi et Pratic, 2012)**

**c/ La vitamine A:** C'est le nom collectif des rétinoïdes et des provitamines A, ou caroténoïdes, (Figure 6). Les produits animaux (foie, lait, jaunes d'œufs) sont riches en rétinoïdes (rétinal, acide rétinoïque, rétinol) tandis que les fruits et légumes contiennent une importante quantité de provitamine A (lutéine, bêta-carotène, lycopène, etc.) (Von lintig, 2012). La vitamine A possède un majeur précurseur qui est le bêta-carotène. Le rôle de cette vitamine est la neutralisation des ERO dans un terrain de nature lipidique (Thomas and Johnson, 2018).



**Figure 6 : Structure chimique et classification des six principaux caroténoïdes alimentaires (Von lintig, 2019)**

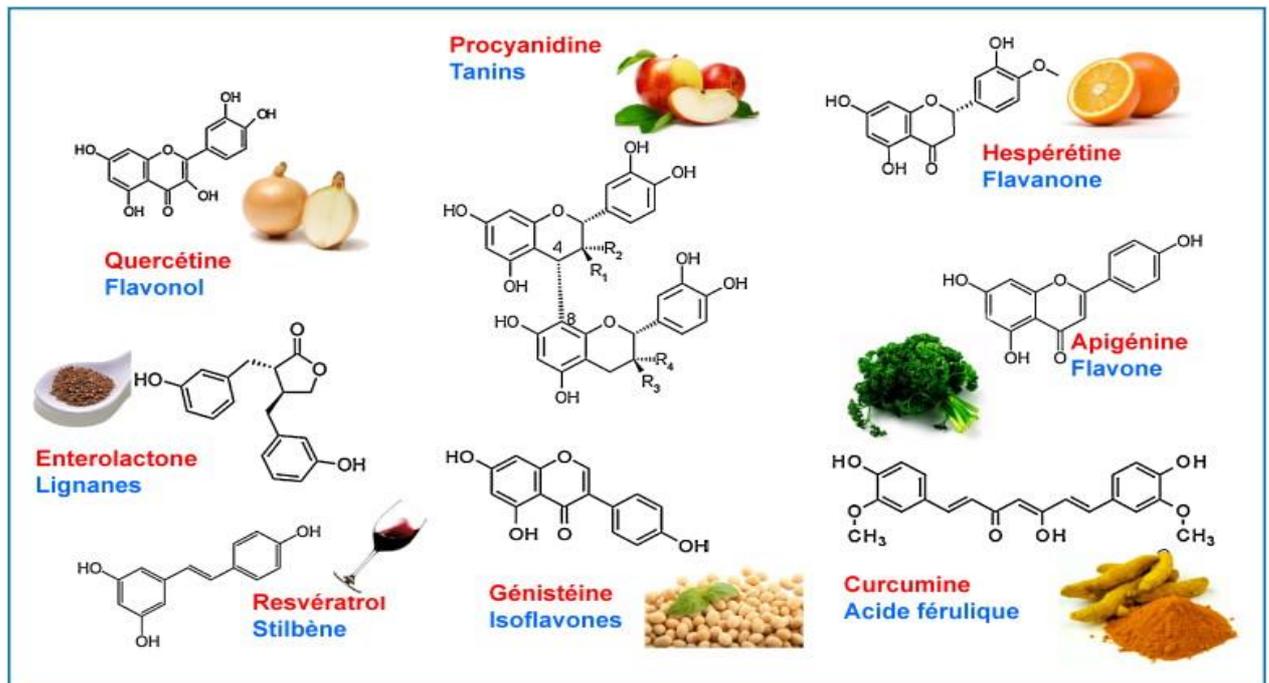
**d/ La vitamine C:** c'est l'acide ascorbique qui est un antioxydant monosaccharide présent chez les animaux et les plantes (Lobo *et al.*, 2010). Son rôle central est connu dans le traitement du scorbut et la prévention des rhumes. Ce dernier rôle est clairement basé sur ses propriétés antioxydantes (Camarena et Wang, 2016). L'acide ascorbique piège les radicaux libres, car il existe in vivo principalement sous la forme de l'anion ascorbate et possède un groupe hydroxyle (-OH) très actif (Figure 7) (Shang *et al.*, 2003). D'autre part, l'acide ascorbique est un excellent agent réducteur. Il réduit facilement les ions ferriques en ions ferreux, qui catalysent la réaction de Fenton (Denisov et Afanas'ev, 2005). De plus, en combinaison avec le GSH et des composés pouvant fournir des équivalents réducteurs, il régénère la vitamine E dans les membranes cellulaires (Nimse et Pal, 2015).



**Figure 7 : Structure chimique de la vitamine C (Camarena et Wang, 2016)**

**e/ Les polyphénols:** Se sont des molécules chimiques synthétisés par les plantes contenant dans leur structures moléculaires des unités de types phénoliques (Masaki, 2010). Cette structure

(Figure 8) est simple comme dans les acides phénoliques ou hautement polymère comme les tanins condensés (Galleano *et al.*, 2010). L'effet antioxydant des composés phénoliques est important grâce à leurs propriétés rédox, en réagissant comme réducteurs, donneurs d'hydrogène et arracheur de l'oxygène singulet, chélateurs de métaux (Gülçin *et al.*, 2010). Les flavonoïdes sont les plus courants dans l'alimentation humaine. Ces polyphénols se caractérisent par la présence de deux cycles aromatiques dans leurs structures, grâce à 3 atomes de carbone le phénol et la pyridine sont reliés, souvent dérivés d'un noyau hétérocyclique contenant de l'oxygène (Ozcan *et al.*, 2014). Les flavonoïdes sont impliqués dans la protection des systèmes biologiques en activant les enzymes antioxydantes, à diminuer la présence des radicaux  $\alpha$ -tocophérols et à inhiber les enzymes oxydatives (Shahidi et Yeo, 2018), aussi ils se lient à des molécules telles que les enzymes, les transporteurs hormonaux et l'ADN, ils chélatent les ions des métaux de transition, ils catalysent le transfert d'électrons et éliminent les radicaux libres tels que les anions superoxydes (Amiot *et al.*, 2009).



**Figure 8 : Polyphénols à effets thérapeutiques (Bennetau-Pelissero, 2014)**

Quercétine: anti-inflammatoire; procyanidine: vasculo-protectrice; hespérétine: neuroprotectrice et vasculo-protectrice; entérolactone: vasculo-protecteur et protecteur osseux; résvératrol: anticancéreux; génistéine: anti-bouffées de chaleur et protectrice osseuse; curcumine: anticancéreuse).

## f/ Les oligoéléments

✚ **Le sélénium (Se) :** c'est un oligo-élément qui joue un rôle important dans la protection des cellules et de leurs composants contre les attaques des radicaux libres. Il est présent dans le site actif de la glutathion peroxydase dépendante du sélénium (Pisoschi et Pop, 2015). Le sélénium a de nombreuses fonctions biologiques dans le corps humain, mais son activité

antioxydante est la plus intéressante (Wrobel *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2017).

✚ **Le zinc (Zn) :** c'est un oligo-élément essentiel au fonctionnement normal du système immunitaire, au contrôle du glucose, à la cicatrisation des plaies et à la réponse au stress oxydatif (Cheng *et al.*, 2010). Il est bien connu pour son rôle de cofacteur pour plus de 300 enzymes et joue un rôle important dans la synthèse de l'ADN, la prolifération cellulaire, la synthèse des protéines et l'intégrité de la membrane cellulaire (Roohani *et al.*, 2013). Une carence en zinc peut perturber l'équilibre oxydant/antioxydant et provoquer un stress oxydatif (Richardson *et al.*, 2001), expulser les ions de métaux de transition liés et empêcher la peroxydation des lipides membranaires (Stehbens, 2003).

#### 1.4 Les sources cellulaires des radicaux libres

Les ERO peuvent être produites à partir de sources endogènes ou exogènes. Les sources de ERO endogènes incluent différents organes cellulaires tels que les mitochondries, les peroxysomes et le réticulum endoplasmique, où la consommation d'oxygène est élevée (Figure 9) (Finaud *et al.*, 2006). Il existe également autres sources endogènes comme la synthèse de prostaglandine, l'auto-oxydation de l'adrénaline, les cellules phagocytaires, la riboflavine réduite, le cytochrome P 450, l'activation des cellules immunitaires, les inflammations, les infections, le cancer, le vieillissement, l'ischémie... etc. (Teshima *et al.*, 2014 ; Phaniendra *et al.*, 2015; Engwa, 2018). D'autre part, les ERO ont aussi plusieurs sources exogènes par exemple la pollution de l'air et de l'eau, les pesticides, les métaux de transition, les solvants industriels (Pham-Huy, 2008).

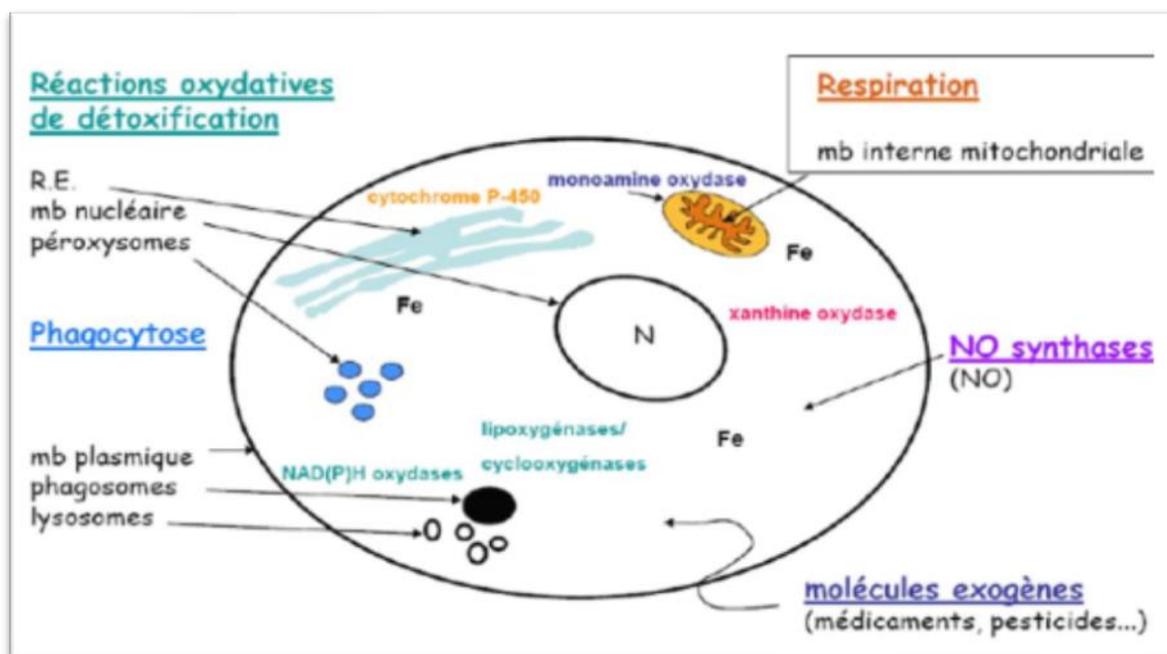


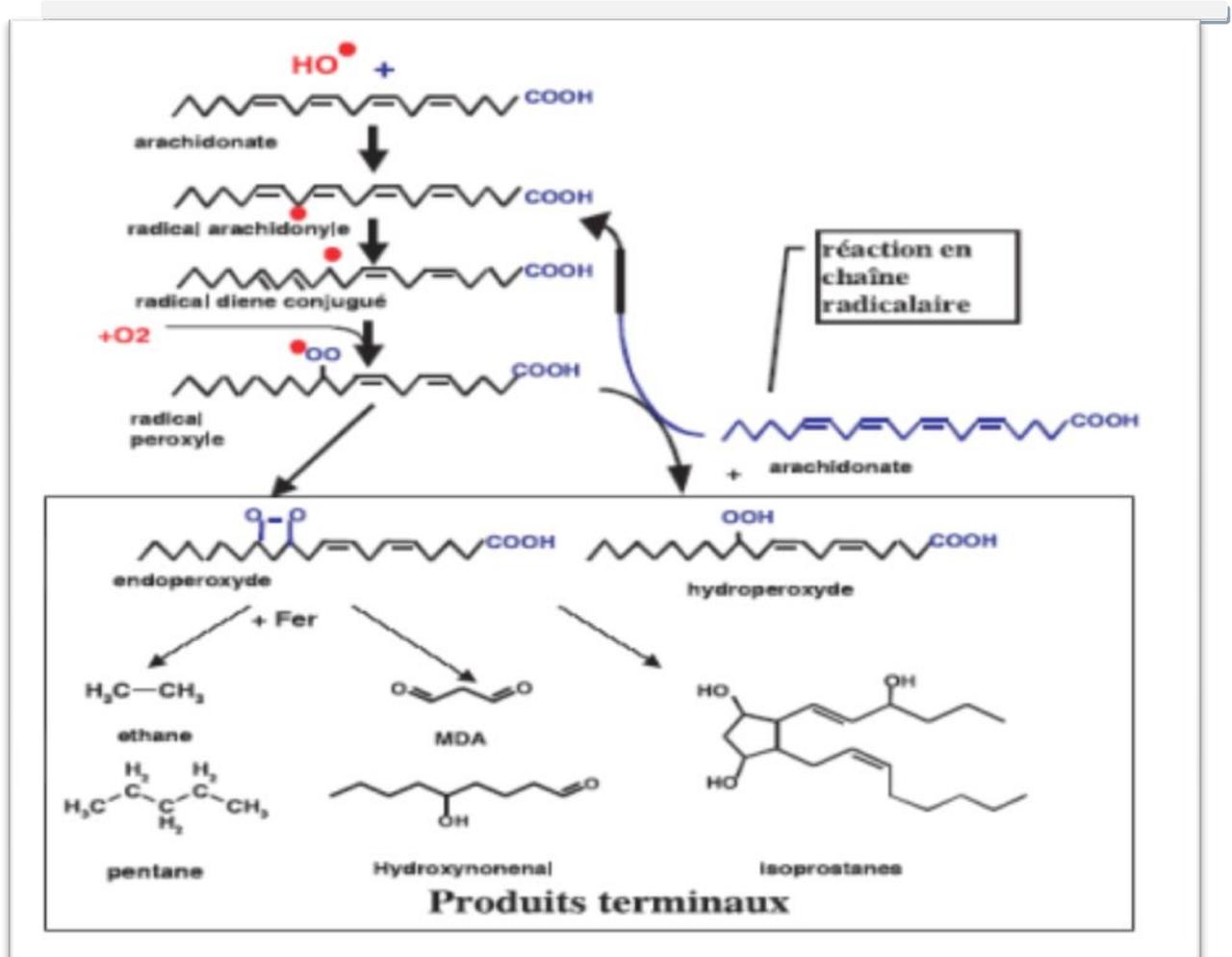
Figure 9 : Les principaux sites cellulaires de productions des ERO (Pham-Huy, 2008)

## 1.5 Les effets du stress oxydatif

Les cellules humaines sont soumises à une moyenne de 105 stress oxydatifs par jour et qui sont ciblées par les radicaux hydroxyles et autres agents oxydants. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des espèces toxiques, hautement réactives et biologiquement importantes, dont les principales cibles sont le noyau et les membranes des cellules. En outre, les radicaux libres attaquent des macromolécules importantes, provoquant des dommages cellulaires et une perturbation de l'homéostasie (Valko *et al.*, 2004; Lobo *et al.*, 2010).

### 1.5.1 La peroxydation lipidique

Les composants lipidiques des membranes subissent une peroxydation par les radicaux libres, entraînant une diminution de la fonction membranaire (diminution de la fluidité, inactivation des enzymes et des récepteurs liés à la membrane) (Favier, 2003 ; Yin *et al.*, 2011). Ce phénomène se produit sur les acides gras polyinsaturés par des réactions radicalaires en chaîne. La peroxydation des lipides commence lorsqu'un radical libre attaque le groupe méthylène (-CH<sub>2</sub>) d'un acide gras et libère de l'hydrogène, produisant un radical lipidique carbonique (L•) ; ce phénomène est appelé initiation. Le radical (L•) interagit avec des molécules d'oxygène pour former un radical peroxy-lipidique (LOO•) cette étape est appelé prolongation (Valko *et al.*, 2006). La dernière phase est appelé terminaison lorsque le radical peroxy-lipidique (LOO•) subit une réaction de cyclisation et de réarrangement, formant finalement du malondialdéhyde (MDA) et du 4-hydroxynonanal (4-HNA), 2-alcénal. Ces composés sont utilisés comme marqueurs pour mesurer la peroxydation lipidique confirmé dans plusieurs maladies (Signorini *et al.*, 2013), (Figure 10).



**Figure 10: Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (Favier, 2003)**

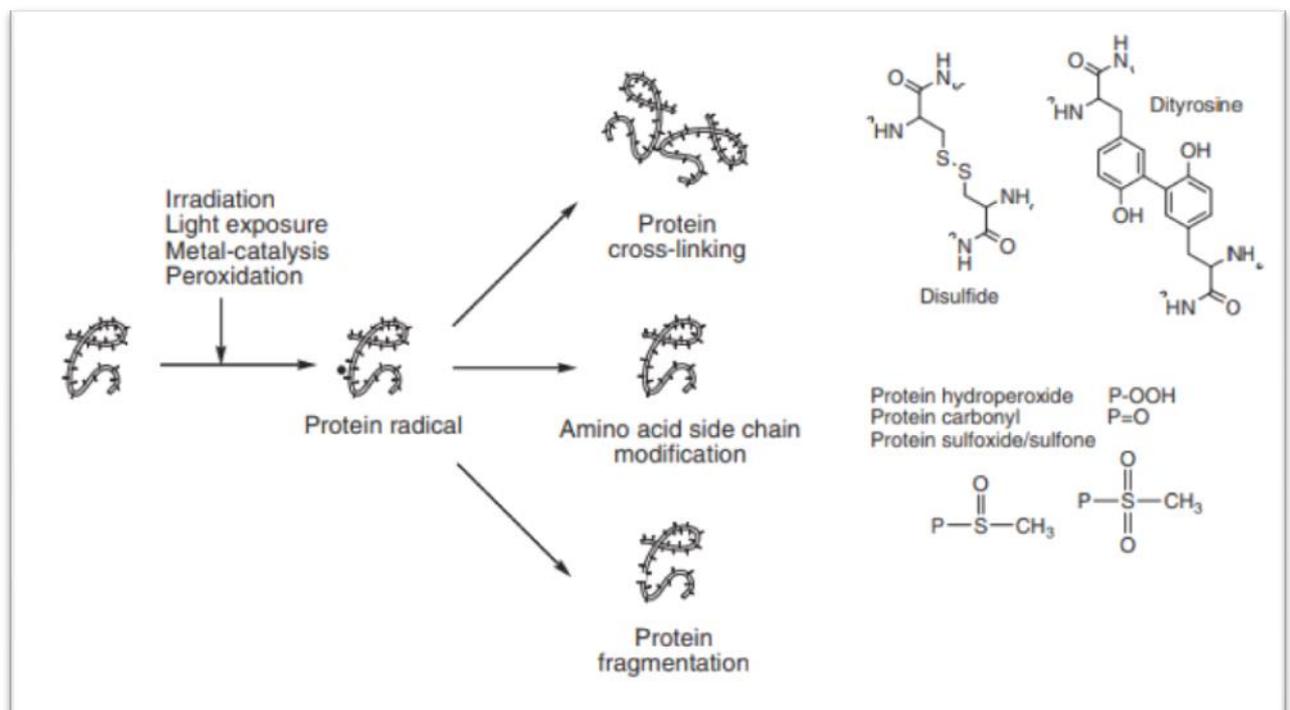
### 1.5.2 L'oxydation des glucides

Les glucides sont attaqués par des radicaux libres tels que  $-\text{OH}$ , qui tirent au hasard un atome d'hydrogène de l'un des atomes de carbone, produisant ainsi un radical carbone. Cela conduit à la scission en chaîne de molécules telles que l'acide hyaluronique (Sharma, 2014). Dans les étapes initiales de la glycosylation non enzymatique, la fragmentation des sucres entraîne la formation d'espèces à chaîne courte telles que le glycolaldéhyde (Favier, 2003). Ces chaînes sont trop courtes pour être cyclisées et sont donc sujettes à l'autoxydation, formant des radicaux superoxydes. Cette réaction radicalaire en chaîne produit des  $\beta$ -dicarbonyles, qui sont connus comme des agents mutagènes (Sharma, 2014 ; Carocho et Ferreira, 2013).

### 1.5.3 L'oxydation des protéines

Les protéines subissent des modifications oxydatives de trois manières (Figure 11): oxydation d'acides aminés spécifiques, clivage de peptides et formation de liaisons transversales protéiques par réaction avec des produits de peroxydation lipidique (Lobo *et al.*, 2010). La dégradation des

acides aminés se produit principalement par la réactivité des radicaux hydroxyles. Ces radicaux ne dégradent pas seulement le squelette de la protéine mais sont également impliqués dans le clivage des liaisons peptidiques. Les ERO peuvent également oxyder les chaînes latérales de presque tous les acides aminés, en particulier les acides aminés soufrés qui sont la cystéine et la méthionine et les acides aminés cyclique (Davies, 2000 ; Lund *et al.*, 2011). Les acides aminés oxydés ont une plus grande tendance à se réticuler, ce qui affecte le repliement et la fonction. La plupart de ces acides aminés oxydés sont rapidement éliminés de l'organisme, mais s'ils s'accumulent sur une longue période, ils peuvent contribuer aux dommages associés au vieillissement et à diverses maladies (Quaye, 2012 ; Reeg et Grune, 2015).



**Figure 11 : Oxydation des protéines (Lund *et al.*, 2011)**

#### 1.5.4 L'oxydation de l'ADN

L'ADN est également susceptible d'être attaqué par les radicaux libres, le plus souvent par oxydation, notamment par les radicaux hydroxyles ( $\bullet\text{OH}$ ) qui endommagent les bases oxydées (Gredilla, 2011). Les ERO peuvent induire une oxydation notamment de la guanine, qui peut réagir avec les radicaux hydroxyles pour former la 8-hydroxyguanosine (8-OH-G), qui est ensuite converti en 8-hydroxy-2-déoxyguanosine (8-OH-dG) (Kino *et al.*, 2017). Les niveaux de 8-OH-dG trouvés dans certains systèmes biologiques sont utilisés comme marqueur des niveaux de stress oxydatif (Thanan *et al.*, 2015). Les attaques radicalaires créées par les radicaux hydroxyles peuvent affecter les molécules d'ADN, provoquant des cassures et des mutations cancérigènes au niveau des brins d'ADN et l'apoptose cellulaire (Lima *et al.*, 2019), (Figure 12).

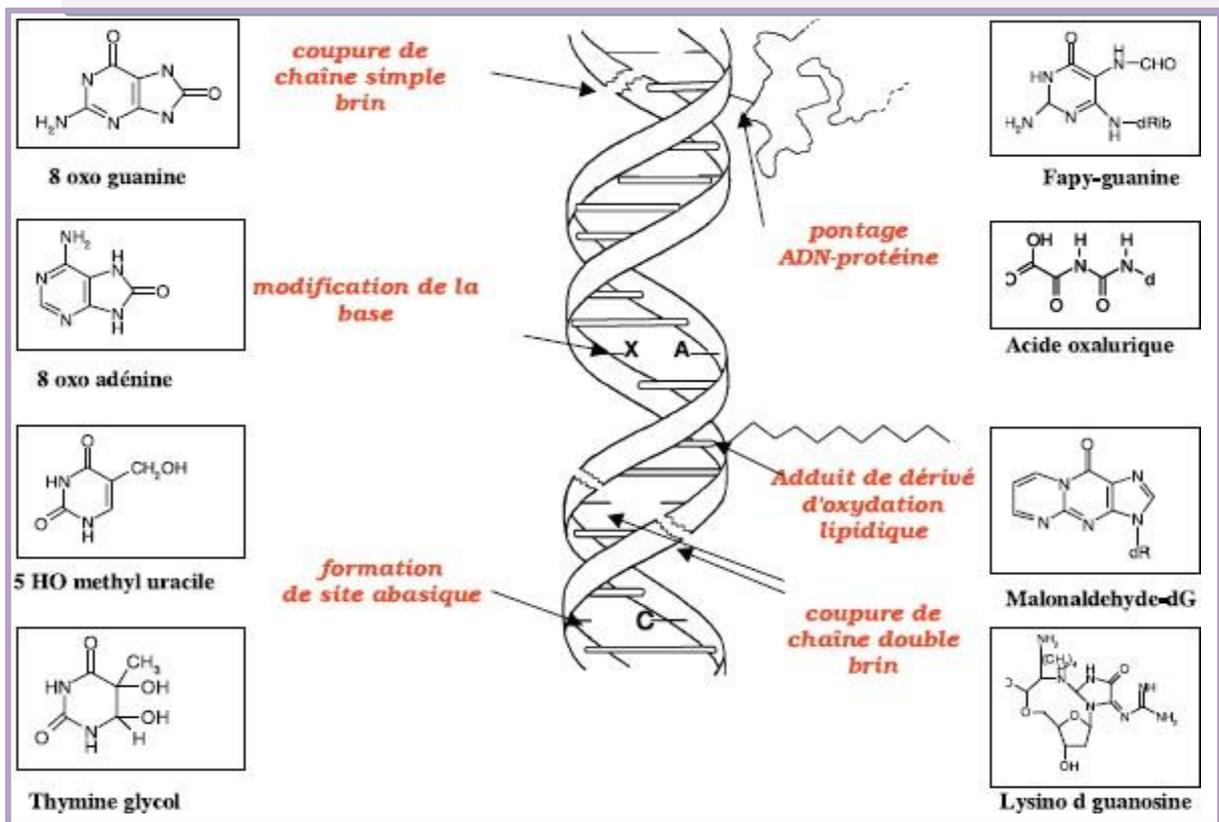


Figure 12 : oxydation de l'ADN (Lima *et al.*, 2019)

### 1.6 Maladies associées au stress oxydatif

Le stress oxydatif est associé à diverses maladies. Certaines maladies sont localisées aux niveaux tissulaire et cellulaire, sont associées à différents types de radicaux libres et sont associées à d'autres facteurs causals et à des anomalies génétiques individuelles. (Karam *et al.*, 2013). Le stress oxydatif, par la production de molécules chimiquement et irréversiblement anormales et la surexpression de certains gènes, sera une cause initiale majeure de plusieurs maladies, dont le cancer, la sclérose latérale amyotrophique, dégénérescence maculaire, le syndrome pulmonaire aigu, l'œdème pulmonaire et le vieillissement (Phaniendra *et al.*, 2015). Le stress oxydant est un précurseur de développement de pathologies multifactorielles telles que la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires. Dans de nombreux autres états pathologiques, tels que le diabète et l'infection par le VIH, les troubles nutritionnels et métaboliques secondaires à la pathologie sous-jacente, même s'ils ne sont pas systémiques, peuvent être une cause de stress oxydatif. Cependant, même dans des maladies comme le SIDA, le stress oxydatif induit n'est en aucun cas un épiphénomène (Vanessa *et al.*, 2013).

# **Chapitre 2:**

## **Le chlorure de cadmium**

## Chapitre 2 : Le chlorure de cadmium

### 2.1 Structure et propriétés physico-chimiques du cadmium

Le cadmium, découvert en 1809 par Magnus Martin Pontin et préparé pour la première fois en 1817 par le chimiste Allemand Friedrich Stromeyer à partir de la calamine à Thèbes en Grèce, ville fondée par Kadmos (Goyer et Clarkson, 2001), est un métal blanc-bleuâtre (Figure 13), ductile et malléable, qui présente une grande résistance à la corrosion dans diverses atmosphères et plus particulièrement en milieu marin et a une bonne conductibilité électrique (Singh *et al.*, 2007) (Tableau 2). La valence du cadmium la plus répandue dans l'environnement et la seule existante dans les systèmes aqueux est  $Cd^{2+}$  (Bradl, 2005). Le cation métallique  $Cd^{2+}$  est connu comme accepteur d'électrons doux en raison de sa forte polarisabilité et de sa forte électronégativité (Sulaymon *et al.*, 2011). Ses propriétés chimiques sont similaires à celles du calcium, notamment son rayon ionique, qui facilite sa pénétration dans les organismes vivants. (Zhao *et al.*, 2022).



Figure 13: Aspect du Cadmium (Arris, 2008)

Tableau 2: Propriétés physico-chimiques du cadmium (Genchi *et al.*, 2020)

Caractère	Valeurs
Symbole chimique	Cd
Nombre atomique	48
Masse atomique	112,411
Nombre d'oxydation	+2
Densité	8,650 g/cm <sup>3</sup> (293 K)
État physique à 20°C	Solide
Point de fusion	321,07 °C
Point d'ébullition	767 °C

## 2.2 Origine et fabrication

Le cadmium est un élément relativement rare et on ne le trouve pas dans la nature à l'état actif. Il est présent dans la croûte terrestre à des concentrations de (0,15 mg/Kg) et est combiné aux minéraux de zinc (Bradl, 2005). Il est obtenu comme sous-produit du traitement du zinc et de la fusion du plomb et du cuivre, et trouvé également dans des émissions près des mines qui fondent ces métaux (Sulaymon *et al.*, 2011). Les concentrations de cadmium dans les roches phosphatées varient de 0,1 à 100 mg/g. Le cadmium est présent également dans le milieu aquatique par le biais de la pluie, l'érosion naturelle et l'activité volcanique des volcans marins (Genchi *et al.*, 2022).

## 2.3 Utilisations

Le cadmium est utilisé dans le traitement de surface, dans les revêtements métalliques anticorrosions, dans la fabrication de piles et de batteries alcalines, comme stabilisateur dans les plastiques et les alliages dans l'industrie automobile (Pichard, 2000). Ses principaux composés inorganiques, tels que les oxydes, les chlorures, les bromures, le nitrate, le cyanure, le sulfure et le séléniure, sont utilisés dans la fabrication de baguettes de soudure, de fusibles, de cellules photoélectriques, de semi-conducteurs (Friberg *et al.*, 2019), d'émetteurs de lumière (émetteurs de lumière pour les écrans de télévision) et dans l'industrie électronique. Ils sont également utilisés dans la fabrication de désinfectants pour les terrains de golf, de lubrifiants automobiles, de miroirs spéciaux et d'écrans de protection pour les réacteurs nucléaires (Morin *et al.*, 2007).

## 1.4 Pollution au cadmium dans l'environnement

Le rejet de cadmium dans l'air en France a été estimé à 9,4 tonnes en 2002. Bien que les émissions de l'industrie varient fortement en fonction de la nature de l'activité et de la région, les émissions de cadmium dans l'air proviennent principalement de la métallurgie (Jumarie *et al.*, 2001). L'élimination des déchets ménagers représente environ 7 % des émissions de cadmium en France (4 mg/kg de matière sèche). Les sels de cadmium volatils se trouvent dans l'air sous forme de très fines particules solides (fumée et poussière) (Jumarie *et al.*, 2001; Sinicropi *et al.*, 2010). Lors d'une exposition professionnelle ou environnementale, ces particules sont inhalées et se déposent particulièrement dans les alvéoles. Le bureau européen de l'Organisation mondiale de la santé suggère une concentration atmosphérique de cadmium de 5 nanogrammes par mètre cube. (Sulaymon *et al.*, 2011). Outre les émissions atmosphériques, une certaine quantité de cadmium est également rejetée directement dans le sol et l'eau. Les activités métallurgiques, minières et agricoles sont les majeurs facteurs de cette pollution, comme l'utilisation d'engrais phosphatés provoque une contamination des surfaces d'eau par le

cadmium, ce qui affecte à son tour la chaîne alimentaire (Jumarie *et al.*, 2001 ; Friberg *et al.*, 2019).

### 1.5 Toxicité du cadmium

La toxicité des métaux dépend de la forme sous laquelle se trouve l'élément, de la manière dont il est absorbé (orale ou inhalée), du type d'organisme dans lequel se trouve le métal, du stade de développement et d'organes spécifiques (Satarug, 2019). Les métaux lourds, également appelés les oligo-éléments, sont des composés présents dans l'organisme en général, dont certains sont particulièrement nécessaires au fonctionnement d'enzymes telles que le bore, le zinc et le cuivre (Audry *et al.*, 2004). D'autres éléments comme le cadmium, le plomb, le mercure et l'arsenic ne sont pas nécessaires à notre vie et sont pathogènes pour les organismes vivants. Le cadmium est très toxique pour les humains et les autres êtres vivants (Jumarie *et al.*, 2001).

## 2.6 La cinétique du cadmium

### 2.6.1 Absorption et spéciation

La spéciation du Cd, les différentes formes physico-chimiques sous lesquelles il se présente, sont très importantes car ça détermine la mobilité, la biodisponibilité et la toxicité des éléments chimiques. En fait, l'absorption est souvent dépendante de la spéciation (Horiguchi, 2019). Par conséquent, il convient d'en tenir compte lors de l'évaluation des risques pour la santé humaine. Sous forme élémentaire, le Cd n'est pas toxique, mais il devient très nocif sous la forme cationique électrophile du  $\text{Cd}^{2+}$  (Bradl, 2005). Il peut être absorbé sous cette forme au niveau intestinal et pulmonaire. Ainsi, en mimant au niveau d'un transporteur membranaire particulier, il entre en compétition avec d'autres métaux divalents essentiels ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ), mais il peut aussi être absorbé sous d'autres formes (Nordberg *et al.*, 2007).

#### 2.6.1.1 Absorption par inhalation

Le Cd et ses sels sont pratiquement moins volatils et existent principalement dans l'air sous forme d'aérosols enrichis de petites particules de matière. La biodisponibilité des sédiments pulmonaires et de ces poussières dépend de leur taille (Sulaymon *et al.*, 2011). La biodisponibilité pulmonaire du Cd inhalé est estimée à 25-50 %, bien que ce pourcentage dépende de la solubilité du composé de Cd et de la taille des particules (Oberdorster *et al.*, 2005). L'absorption du Cd sera plus importante sous forme de vapeurs et de particules fines. Environ 10 à 50 % des particules inhalées se déposent dans les alvéoles et la plupart restent dans la muqueuse bronchique ciliaire (Genchi *et al.*, 2020). Une fois inhalé, une partie du métal est repoussée par l'action du mucociliaire vers l'œsophage, qui à son tour peut être absorbé par voie

orale. L'absorption de ce métal est très importante en inhalant la fumée de cigarette riche en fines particules de Cd (Schwartz et Blaski, 2000).

### 2.6.1.2 Absorption par ingestion

On pense que seulement 4 à 7 % du cadmium alimentaire est absorbé au niveau gastro-intestinal et que la biodisponibilité orale chez l'homme est d'environ 5 % (Andersen *et al.*, 2004). Chez les femmes en âge de fertilité, la carence en fer est si fréquente qu'elle peut augmenter jusqu'à 10 % en raison de l'augmentation des niveaux d'expression du transporteur du fer. Ainsi, en concurrence avec le fer, le Cd est également mieux absorbé (Nordberg *et al.*, 2007).

### 2.6.2 Transport et distribution du Cd dans l'organisme

Une fois absorbé dans l'épithélium pulmonaire et intestinal, le cadmium pénètre dans la circulation sanguine, où il se lie à une fraction de poids moléculaire élevé (albumine) et à une fraction de faible poids moléculaire (méthionine (MT)) (Zhao *et al.*, 2022). La MT a un poids moléculaire de 6000-7000 g/mol, se compose de 60 à 70 acides aminés et est riche en cystéine (30 %). La MT immobilise les métaux, y compris le cation métallique  $Cd^{2+}$ , grâce à ses nombreux groupes thiol (SH) de cystéine. Dans ce cas, le complexe MTCd se forme (Kumar et Sharma, 2019). Le cadmium sous sa forme complexe est incapable d'exercer ses effets toxiques et ainsi de protéger l'organisme. La MT libre est appelée thionine. La synthèse des MT dans le sang et les tissus est induite par l'existence de plusieurs métaux, dont le Cd. Par conséquent, le Cd libre dans le sang forme des complexes avec la MT (Nordberg *et al.*, 2007). Le cadmium présent dans le sang se distribue à d'autres parties du corps. Principalement trouvé dans le cortex rénal et le foie (Horiguchi, 2019). Les recherches montrent que la concentration de cadmium dans le corps humain augmente avec l'âge et s'accumule d'année en année jusqu'à atteindre son niveau le plus élevé vers 50 ans. Ces taux de distribution dépendent non seulement de l'âge et du contact de tous les jours, mais aussi du statut tabagique (López-Herranz *et al.*, 2016).

### 2.6.3 Excrétion

Bien que le processus d'élimination soit faible, il est nécessaire en toxicologie et son atténuation comporte un grand risque d'accumulation de cadmium et peut entraîner une toxicité (Söderholm *et al.*, 2022). Une petite partie du cadmium ingéré est excrétée principalement par l'urine et les selles (0,01 à 0,02 % de l'exposition quotidienne totale au cadmium), mais pas par la sueur, les ongles ou les cheveux. L'élimination urinaire de Cd augmente avec l'âge (ainsi que son accumulation dans l'organisme) et par rapport aussi à la charge corporelle totale (Nordberg *et al.*,

2007). Les adultes en bonne santé excrètent environ 0,002 mg de Cd par jour, mais les niveaux urinaires chez les personnes exposées professionnellement se sont avérés des centaines de fois plus élevés (López-Herranz *et al.*, 2016). Dans ce cas, la concentration urinaire est un bon indicateur du taux de toxicité. Le taux d'excrétion dans les matières fécales est indépendant de l'âge, mais est partiellement proportionnel à la charge corporelle en Cd. 90 à 95 % du Cd ingéré par l'alimentation n'est pas absorbé et se retrouve directement dans les fèces (Fatima *et al.*, 2019). Par conséquent, la teneur en Cd dans les matières fécales est un bon indicateur de la teneur du Cd dans la nourriture de tous les jours. De plus, un petit pourcentage de Cd provenant de la bile hépatique et du suc pancréatique est excrété dans les fèces sous forme de complexes avec le glutathion réduit (GSH) (Reyes-Hinojosa *et al.*, 2019). Le glutathion est un tripeptide formé de l'association de l'acide glutamique, de la cystéine et de la glycine, il forme des complexes avec le Cd par le groupement thiol (SH) de la cystéine. En effet, la bile contenant du GSH-Cd s'écoule dans le duodénum par le canal de Vater (Zhao *et al.*, 2022). Ce composant peut subir une hydrolyse pour donner du cadmium libre, ce dernier aura une réabsorption dans le duodénum et sera par la suite transporté vers le foie via la veine porte hépatique (Wang *et al.*, 2013). À ce stade, le foie excrète la bile contenant le nouveau complexe GSH-Cd dans la lumière duodénale. Où le cycle entérohépatique est répliqué. Ce dernier peut être responsable des effets toxiques durables du Cd, et est donc éliminé plus lentement, augmentant encore sa demi-vie (Stohs *et al.*, 2000).

## 2.7 Toxicodynamique du cadmium

Le cadmium avec toutes ses formes est très toxique (métaux, vapeurs, sels, composés organiques) pour l'homme et l'environnement. Le cadmium n'est peut-être pas un élément essentiel pour l'organisme, mais il est électrophile, ce qui pose de réels problèmes de toxicité (Gaurav *et al.*, 2010). Il est très faiblement éliminé par toute dégradation métabolique et est fortement retenu dans l'organisme, d'où une longue demi-vie biologique chez l'homme. L'OMS classe le cadmium comme cancérigène de type I (Wang *et al.*, 2013). L'organe cible est souvent l'organe d'absorption (épithélium intestinal et pulmonaire), mais la toxicité pour les reins, le foie, les os et les poumons est connue quelle que soit la voie d'absorption (Carrière *et al.*, 2001 ; Picot, 2006).

### 2.7.1 Toxicité aiguë

**2.7.1.1 Toxicité par voie digestive :** l'ingestion de cadmium ou de ses composés inorganiques peuvent survenir, surtout si les aliments ou les boissons consommés sont contaminés par du cadmium. En fait, l'ingestion accidentelle de sels minéraux de cadmium provoque une

indigestion sévère suivit rapidement par des nausées, des vomissements sévères, des douleurs d'estomac et de diarrhée (Wang *et al.*, 2013). Ces premiers symptômes sont souvent accompagnés de convulsions et d'hypersécrétion salivaire avec perte de la masse musculaire. Des doses élevées provoquent des troubles hydriques et électrolytiques (Ricoux et Gasztowtt, 2001). L'insuffisance rénale est une conséquence des troubles hémodynamiques et provoque un effet toxique direct sur les tubules rénaux. Des doses élevées peuvent entraîner la mort en quelques heures (Bismuth, 2000).

**2.7.1.2 Toxicité par voie respiratoire:** dans les voies respiratoires après une période asymptomatique rapide (4-10 heures) des symptômes sévères d'irritation ont été observés (toux, douleurs thoraciques), accompagnés de nausées et vomissements, frissons, fièvre, maux de tête, courbatures et leucocytose (Ibrahim *et al.*, 2014). La mort peut survenir 1 à 3 jours après l'infection. Ainsi, l'autopsie pratiquée montre des signes d'œdème pulmonaire (Satarug *et al.*, 2004). C'est la pneumopathie chimique aiguë au Cd. En fait, après plusieurs heures d'incubation, la pneumonie au cadmium se présente avec des signes d'inflammation des voies respiratoires, et provoque une bronchoalvéolite hémorragique, qui peut être mortelle dans 10 à 25 % des cas accompagnée de lésions hépatiques et rénales modérées (El-Boshy *et al.*, 2014).

### 2.7.2 Toxicité chronique

La population générale est à risque d'empoisonnement au Cd après une exposition répétée à de faibles doses (Satarug *et al.*, 2004). L'effet de l'exposition chronique sur divers organes est discuté en détail ci-dessous.

**2.7.2.1 Atteinte pulmonaire:** la teneur élevée en cadmium du tabac est due aux propriétés de la plante nicotiana, qui est capable d'accumuler le cadmium. Les cigarettes contiennent 0,5 à 1 microgramme de cadmium par cigarette (Genchi *et al.*, 2020). L'oxyde de cadmium, formé lors de la combustion, a une biodisponibilité élevée. On estime que 10 % de l'oxyde de cadmium inhalé se localise dans les alvéoles et 30 à 40 % est transféré dans le sang par un mécanisme encore inexpliqué qui peut utiliser le transporteur DMT1 (transporteur de métal divalent 1) (Merra *et al.*, 2014). Par conséquent, Les niveaux de cadmium dans le sang des fumeurs sont 4 à 5 fois plus élevés que chez les non-fumeurs, et les niveaux de métal accumulé dans les reins sont 2 à 3 fois plus élevés que chez les non-fumeurs et peut même conduire à un adénocarcinome du poumon (Brzóska *et al.*, 2016). La capacité du cadmium à induire un stress oxydatif semble jouer un rôle important dans la cancérogenèse (Waalkes, 2003; Satarug et Moore, 2004).

**2.7.2.2 Atteinte osseuse :** Il existe un lien étroit entre l'empoisonnement au cadmium et les lésions osseuses. La maladie Itai-Itai, signalée pour la première fois au Japon en 1967, provoque des perturbations du métabolisme du calcium et une déminéralisation osseuse entraînant une ostéomalacie associée à des troubles rénaux (Reyes-Hinojosa *et al.*, 2019). Ces études montrent également que moins il y a de calcium, de protéines, de fer ou de matières grasses dans l'alimentation, plus l'absorption de cadmium est importante (El-Boshy *et al.*, 2014). Les victimes ressentent d'abord des douleurs au dos et aux jambes avant d'être sujettes à des fractures squelettiques spontanées. La maladie Itai-Itai, qui signifie « douleur » en japonais, est généralement associée à un dysfonctionnement rénal qui supprime l'activation de la vitamine D (Reeves et Cheney, 2004 ; Ernie, 2006).

**2.7.2.3 Atteinte rénale:** Les reins sont considérés comme l'organe le plus endommagé par le cadmium. Le Cd se lie à la métallothionéine (MT-Cd) dans le foie et est transporté par la circulation systémique vers les reins. Dans les reins, les complexes MT-Cd sont emmagasinés dans les lysosomes, où ils sont catabolisés provoquant une néphrotoxicité (Goyer et Clarkson, 2001; Zhao *et al.*, 2022). Environ la moitié des réserves de Cd du corps se trouvent dans les reins. Une exposition élevée et prolongée endommage les reins, principalement les cellules des tubules rénaux et des glomérules. Les lésions rénales induites par le cadmium se manifestent généralement par un dysfonctionnement tubulaire rénal (Baiomy et Mansour, 2016), accompagné d'une excrétion accrue de protéines de faible poids moléculaire (par exemple,  $\beta$ 2-microglobuline,  $\alpha$ -microglobuline, N-acétylglucosaminidase) et de lésions caractérisées par une augmentation du volume urinaire, excrétion de glucose et de glucosamine, acide et calcium après capacité de réabsorption réduite (Thevenod, 2003).

**2.7.2.4 Génotoxicité du cadmium :** certaines études *in vitro* ont montré que le Cd ne peut se lier à l'ADN que dans des expériences expérimentales. L'exposition au Cd a été associée aux cancers des poumons, de la prostate, du pancréas, du foie et des Reins. Le Cd a été classé par le centre international de recherche sur le cancer (CIRC) comme cancérigène de type I (Genchi *et al.*, 2022).

**Chapitre 3: Le**  
*Curcuma longa*

**Chapitre 3 : Le *Curcuma longa*****3.1. Origine, histoire et production du curcuma**

Le curcuma a été cultivé et utilisé dans les pays d'Asie du Sud-Est. Ses propriétés en font un ingrédient nutritionnel et pharmaceutique très efficace. La première référence au curcuma peut être vue dans l'Atharvaveda, la médecine traditionnelle indienne dans laquelle le curcuma était prescrit pour éliminer la jaunisse (Ravindran *et al.*, 2007). Il a également été recommandé dans le traitement de la lèpre. Pour les anciens, le curcuma n'était pas une épice mais un colorant et un remède à de nombreux maux. Il est introduit dans la cuisine pour conserver les produits alimentaires et est souvent utilisé pour colorer les plats (Prabhakaran, 2013).

Originaire d'Inde, le curcuma a atteint les côtes chinoises 700 ans plus tard, l'Afrique de l'Est 100 ans plus tard et l'Afrique de l'Ouest 500 ans plus tard. L'Inde est le plus grand producteur, consommateur et exportateur. Environ 80% de la production mondiale de curcuma provient de l'Inde. Les producteurs étrangers sont la Thaïlande, la Chine, l'Amérique du Sud, les îles du Pacifique (Ching, *et al.*, 2014). La production annuelle de curcuma en Inde est d'environ 635 950 tonnes avec une superficie de 175 190 hectares (en 2002-2003). La production du curcuma représente environ 5,5 % de la superficie de l'Inde et 20,6 % de la production d'épices de l'Inde. Le curcuma indien est considéré comme le meilleur sur le marché mondial en raison de sa forte teneur en curcumine (Prabhakaran, 2013).

**3.2. Description botanique du curcuma**

Le curcuma est une plante vivace dressée qui pousse chaque année et, dans certains cas, tous les deux ans (Figure 14). La hauteur atteint environ 120 cm. *Curcuma longa* appartient à la famille des Zingiberaceae, de l'ordre des Zingiberales des monocots. La famille comprend 47 genres et 1400 espèces. Les feuilles sont touffues, alternant en diagonale droite. Les pousses feuillues dépassent rarement 1 m de hauteur (Motaleb *et al.*, 2013). Habituellement, il y a 6 à 10 feuilles dans une pousse feuillue. Le rhizome est la tige souterraine du curcuma, qui peut être divisée en deux parties, le rhizome mère central en forme de poire et ses branches axillaires latérales appelées doigts. Normalement, il n'y a qu'un seul axe principal (Xia *et al.*, 2015). Un doigt complet ou un rhizome mère est utilisé comme matériel de plantation. Le rhizome est orange foncé et l'extérieur est orange jaunâtre avec un fort arôme. Les fleurs sont fines, blanches et fugaces et mesurent environ 5 cm de long. La floraison commence après 109-155 jours de la date de plantation. Les inflorescences durent environ 1 à 2 semaines après leur apparition (Prabhakaran, 2013).



Figure 14 : La plante *Curcuma longa* (Leroy, 2019)

### 3.3 Composition chimique du curcuma

Les rhizomes de *Curcuma longa* (Figure 15- A, B) contiennent des substances volatiles et non volatiles. Les composants chimiques des huiles volatiles sont artturmerone, turmerone, Zingiberene et Curlone. Plus de 20 composés ont été identifiés dans l'huile des feuilles, dont l'aphellandrène, le 1,8 cinéole, le p-cymène et le  $\beta$ -pinène, qui sont les composés majeurs (Hoppe, 2001). Les composés non volatils du curcuma sont des colorants (Motaleb *et al.*, 2013). Les principaux composants bioactifs du curcuma, appelés curcuminoïdes (Figure 16), sont une riche source de composés phénoliques, à savoir la curcumine I (diferuloyl méthane), la curcumine II (déméthoxycurcumine) et la curcumine III (bisdéméthoxy curcumine) (Rao *et al.*, 2015). La curcumine I est le principal ingrédient actif dérivé de la racine de curcuma (Péret-Almeida *et al.*, 2005). La curcumine est soluble dans l'éthanol et l'acétone mais insoluble dans l'eau. Dans la composition du curcuma, il y a également de nombreux glucides, minéraux, protéines et vitamines (Prabhakaran, 2013), (Tableau 3).

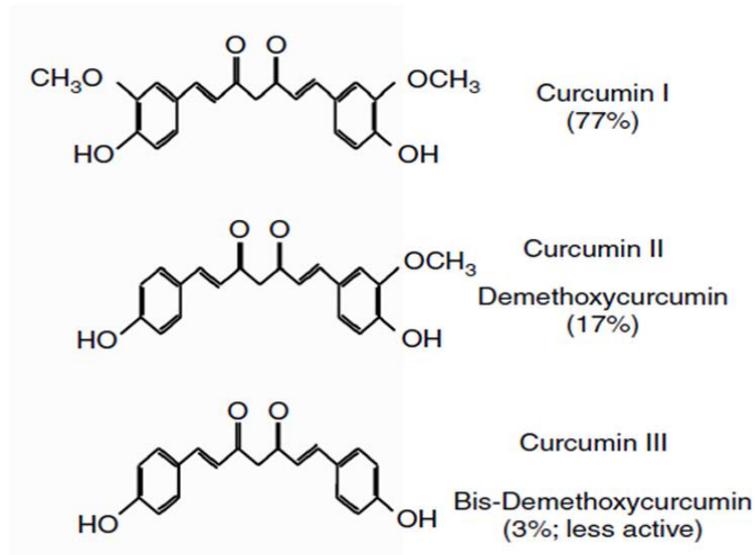


(A) Racine de curcuma



(B) Poudre de curcuma cristallisé

Figure 15 : Rhizomes de curcuma (Wicht et Anton, 2003 ; Péret-Almeida *et al.*, 2005)



**Figure 16 : Structure chimique des curcuminoïdes (Wicht and Anton, 2003 ; Péret-Almeida *et al.*, 2005)**

**Tableau 3 : Les constituants chimiques du *Curcuma longa* et leurs pourcentages (Ravindran *et al.*, 2007)**

Composition	Pourcentage (%)
Humidité	6–13
Glucides	60–70
Protéines	6–8
Fibre	2–7
Matières minérales	3–7
Graisse	5-10
Huile volatile	3–7
Curcuminoïdes	2–6

### 3.4. Utilisation du curcuma

#### 3.4.1 Le curcuma dans la médecine traditionnelle

Le curcuma est souvent utilisé comme antiseptique, il a un effet rajeunissant sur l'état post-partum de la mère après la naissance. Le curcuma est utilisé pour traiter l'arthrite, le rhume, la grippe et la conservation des aliments grâce à ses activités antibactériennes (Esatbeyoglu *et al.*, 2012). Cet ancien traitement combat également les problèmes dentaires et les troubles digestifs comme l'indigestion, les problèmes de digestion, l'acidité, les flatulences et les ulcères (Anil *et al.*, 2011). Dans le système de médecine Unani (Indien), le curcuma est utilisé pour l'ascite, la

jaunisse et l'inflammation. En revanche, dans le système de médecine Himalayen, le curcuma est utilisé comme contraceptif et tonique cutané, ainsi que pour traiter les gonflements, les plaies, la coqueluche, les lésions internes, les furoncles et autres lésions extérieures (Wichtz and Anton, 2003).

### 3.4.2 Le curcuma en cosmétologie

Le curcuma est une plante qui a la capacité d'éclaircir la peau. Les propriétés antibactériennes du curcuma aident au traitement de l'acné et ses propriétés anti-inflammatoires traitent les boutons. Le curcuma peut être utilisé pour les peaux grasses comme nettoyant ou masque (Emiroglu *et al.* 2017). Il peut également bloquer les enzymes inflammatoires impliquées dans le psoriasis. Selon une étude japonaise, le curcuma peut empêcher la formation de rides et de pigment de mélanine (Esatbeyoglu *et al.*, 2012). Il prévient la perte d'élasticité de la peau causée par l'exposition chronique aux UVB. Il a été utilisé même en dentisterie, il blanchit et protège les dents (Chaturvedi, 2009).

### 3.4.3 Le curcuma comme additif alimentaire

Le curcuma, connu sous le nom de "safran Indien", est utilisé depuis 4000 ans, et largement utilisé comme épice dans la cuisine sud-Asiatique et moyen-orientale (Van der Veen, 2014). Codé "E100" comme additif alimentaire, le curcuma est utilisé comme colorant pour le fromage et le beurre (Abou-Elkhair *et al.*, 2014), et dans les aliments manufacturés tels que les boissons en conserve, les produits laitiers, les produits de boulangerie, la crème glacée, le yogourt, le jus d'orange, les biscuits, le maïs soufflé, les bonbons, le glaçage à gâteau, les céréales, les sauces et la gélatine (Ashok Kumar and Bangaraiah, 2001). C'est un ingrédient important dans la plupart des poudres de curry commerciales. Il peut être incorporé dans les aliments, notamment les plats à base de riz et de haricots, pour améliorer la digestion et réduire les gaz et les ballonnements. C'est un cholagogue qui stimule la production et excrétion de la bile dans le foie (Prasad et Aggarwal, 2011).

## 3.5 Propriétés médicinales du curcuma

### 3.5.1 Propriétés néphroprotectrices

La curcumine empêche la néphrotoxicité. Il a été prouvé que le traitement à la curcumine a été nettement protecteur contre la protéinurie, l'albuminurie, l'hypoalbuminémie et l'hyperlipidémie induite par l'ADR (Venkatesan *et al.*, (2000). Les effets néphroprotecteurs du curcuma (notamment du xanthorrhizol isolé du rhizome de *Curcuma longa*) ont été démontrés contre la néphrotoxicité provoquée par la substance toxique cisplatine (Kim *et al.*, 2005).

### 3.5.2 Propriétés gastroprotectrices

Le curcuma est bénéfique pour les maux d'estomac, les coliques et les ballonnements. Les extraits de curcuma réduisent la sécrétion d'acide gastrique et protègent contre les dommages tels que l'inflammation le long de la paroi de l'estomac ou des intestins et les ulcères causés par certains médicaments (Agarwal *et al.*, 2010). La curcumine réduit la motilité intestinale chez les rats albinos suite à une dose intragastrique unique de 1 g/kg de poids corporel, ce qui peut expliquer en partie l'utilisation traditionnelle de la curcumine dans ces troubles tels que la diarrhée, les crampes abdominales et le syndrome du côlon irritable (Ravindran *et al.*, 2007).

### 3.5.3 Propriétés cardioprotectrices

La curcumine réduit l'augmentation du poids relatif du cœur et la nécrose cardiaque. Même les modifications tissulaires architecturales observées dans la nécrose cardiaque (Naik *et al.*, 2011). Le curcuma améliore aussi la tension artérielle chez des rats soumis à un régime contenant de l'ail et du curcuma (Zahid Ashraf *et al.*, 2005).

### 3.5.4 Propriétés hépatoprotectrices

La curcumine peut réduire la toxicité hépatique, la curcumine s'est avérée près de dix fois plus efficace que le traitement conventionnel à l'acide ascorbique (Song *et al.*, 2001). Le curcuma est bénéfique en cas de cirrhose du foie qui est une maladie diffuse, chronique, irréversible et grave du foie avec des lésions des cellules hépatiques, une fibrose, et des nodules de régénération. Les tissus sains sont donc remplacés par des cicatrices, ce qui empêche le fonctionnement correcte du foie (Eybl *et al.*, 2004).

### 3.5.5 Propriétés antimicrobiennes

L'utilisation médicinale traditionnelle du curcuma est réponde en raison de ses propriétés antibactériennes, par exemple l'extrait de rhizome était en effet efficace contre les champignons *Fusarium oxysporium*, *Aspergillus niger*, *A. nidulans* et *Alternaria solani* et les bactéries *Staphylococcus albus*, *E. coli* et *Pseudomonas pyocyanea* (Chauhan *et al.*, 2003).

### 3.5.6 Propriétés antidiabétiques

Le rhizome de curcuma a récemment été utilisé pour lutter contre le diabète. Les rats diabétiques assignés à la streptozotocine (STZ) ont montré une augmentation significative de la glycémie, de la polyurie et une diminution du poids corporel. Le traitement chronique à la curcumine réduit significativement le stress oxydatif chez les rats diabétiques (Priyadarsini, 2014). La curcumine

alimentaire améliore l'état métabolique chez les patients diabétiques. Des souris albinos ayant reçu un régime de 0,5 % de curcumine ou de 1 % de cholestérol ont développé un diabète par injection de streptozotocine (Chen *et al.*, 2015). Les souris diabétiques maintenues à un régime de curcumine pendant 8 semaines excrètent moins d'albumine, de créatinine, d'urée et de phosphore inorganique. L'utilisation de la curcumine a considérablement réduit la glycémie et les taux d'HbA<sub>1</sub>C (Li *et al.*, 2012).

### 3.5.7 Propriétés anti-inflammatoires

La curcumine est hautement anti-inflammatoire et est utilisée en Inde depuis des siècles pour traiter l'inflammation. Au niveau moléculaire, la curcumine bloque une protéine appelée NFκB. Cette dernière est responsable de l'activation des gènes liés à l'inflammation après sa pénétration dans le noyau (Edwards *et al.*, 2017). La curcumine aussi était bénéfique pour les personnes atteintes de la maladie intestinale inflammatoire qui est caractérisée par un stress oxydatif et une infiltration leucocytaire. La curcumine réduit l'infiltration de neutrophiles et la peroxydation lipidique dans le côlon enflammé (Aggarwal *et al.*, 2005).



# Partie Pratique

# Chapitre 4: Matériels et méthodes

## Chapitre 4 : Matériels et méthodes

La partie pratique est réalisée dans différents laboratoires. Les rats ont été sacrifiés et les paramètres hématologiques et biochimiques ont été déterminés au Laboratoire d'Ecophysiologie Animale de l'Université Annababaji Mokhtar (UBMA), Algérie. Concernant les paramètres du stress oxydatif, leur dosage a été réalisé au Laboratoire de Biochimie et Microbiologie Appliquée, Département de Biochimie, Université Annababaji Mokhtar (UBMA), Algérie. Les coupes histologiques et leur interprétation ont été réalisées au service d'anatomopathologie de l'hôpital El Bouni d'Annaba (Algérie).

Le but de notre étude est de prouver l'effet protecteur et antioxydant de *Curcuma longa* contre les effets toxiques et oxydatifs délétères induites par l'exposition subchronique au cadmium.

### 4.1 Produit chimique

Dissoudre le chlorure de cadmium pur (Fluka Macédoine) dans de l'eau minérale et ajuster chaque dose à 5 mg/kg de poids corporel de rat. (Kehili *et al.*, 2017)

### 4.2 Produit végétal

Rhizomes de curcuma achetés au marché local d'Annaba (Algérie). Pour obtenir une fine poudre de curcuma, broyez le rhizome en laboratoire à l'aide d'un mortier et d'un pilon, puis à l'aide d'un mixeur et enfin tamisés pour obtenir une poudre de taille uniforme. Du curcuma a été administré aux rats à raison de 2 % dans le régime alimentaire. (Saidi *et al.*, 2019)

### 4.3 Entretien des rats

L'expérimentation animale a été menée sur 40 rats mâles adultes de la souche *Albinos wistar* pesant  $160 \pm 10$  g, obtenus de l'Institut Pasteur d'Alger - Algérie. L'élevage des rats a été effectué au niveau de l'animalerie de l'université Badji Mokhtar - Annaba. Ils sont élevés dans des cages en polyéthylène, tapissés d'une litière en copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées et la litière changée une fois tous les deux jours avec un accès libre à la nourriture.

Les rats ont subi une période d'adaptation de deux semaines dans des conditions environnementales standard à l'animalerie (cycle lumière/obscurité de 12 h, température à  $21 \pm 2$  °C et humidité relative à  $50 \pm 10$  %). Les rats ont été nourris avec un régime alimentaire spécifique que nous avons préparé selon Upreti *et al.*, (1989) (Tableau 4), l'eau potable est

fournie à volonté dans des biberons *ad libitum*. Les procédures de recherche ont été effectuées conformément aux directives pour le soin des animaux de l'institut national de la santé et approuvées par le comité d'éthique de l'UBMA.

**Tableau 4: Composition du régime alimentaire pour un 1 kg d'aliment (Upreti *et al*, 1989)**

Matière primaire	Pourcentage (%)	Quantité en g/kg
Amidon (maïs)	42	420
Saccharose	20	200
Soja	26	260
Composant Minéro-Vitaminique (CMV)	2	20
Huile	8	80
Son	2	20

#### 4.4 Traitement des rats

Après la période d'adaptation, les rats ont été répartis au hasard en quatre groupes de dix rats chacun, et traités quotidiennement pendant 30 jours par gavage à l'aide d'une sonde gastrique. Le protocole de traitement est expliqué comme suit:

✚ **Groupe 1 (0-0):** a servi de témoin et a reçu un régime alimentaire normal et de l'eau minérale par gavage (*per os*).

✚ **Groupe 2 (0-Cur):** est nourri par un régime alimentaire expérimental contenant 2 % de curcuma et de l'eau minérale.

✚ **Groupe 3 (Cd-0):** a reçu une dose orale (*per os*) de chlorure de cadmium (5 mg/kg) associée à un régime alimentaire normal.

✚ **Groupe 4 (Cd-Cur):** a reçu une dose orale (*per os*) de chlorure de cadmium (5 mg/kg) associée à un régime expérimental contenant 2 % de curcuma.

#### 4.5 Prélèvement sanguin

A la fin de la période du traitement, les rats sont mis à jeun pendant la nuit. Ils sont sacrifiés le matin par décapitation. Pour chaque rat, la glycémie a été mesurée sur place par un glucomètre (Accu-check active) et le sang a été immédiatement recueilli dans deux tubes étiquetés, l'un sec et l'autre contient l'EDTA comme anticoagulant:

✚ Les tubes à EDTA ont servi pour la détermination de la formule de numération sanguine (FNS) ;

✚ Les tubes secs ont été centrifugés à 3000 tours/minute pendant 15 minutes, les sérums récupérés ont servi à la détermination des paramètres biochimiques (glycémie, acide urique, urée, créatinine, protéines totales, cholestérol, triglycéride, phosphatase alcaline, transaminase AST/ALT, lactate déshydrogénase, bilirubine total et directe,  $\alpha$  amylase et lipase).

### 4.6 Prélèvement des organes

Après la dissection, le foie, les reins, les testicules, le cœur, la rate, et une partie des intestins ont été prélevés et débarrassés de leurs tissus adipeux puis pesés. Un fragment de foie et de rein de chaque groupe ont été fixés séparément dans le Bouin alcoolique afin de réaliser des coupes histologiques. Une partie de ces organes ont été stockés au congélateur à - 20 °C pour le dosage des paramètres de stress oxydant (GSH, MDA, GPx, GST, CAT). La figure 17 résume les différentes étapes du protocole expérimental.

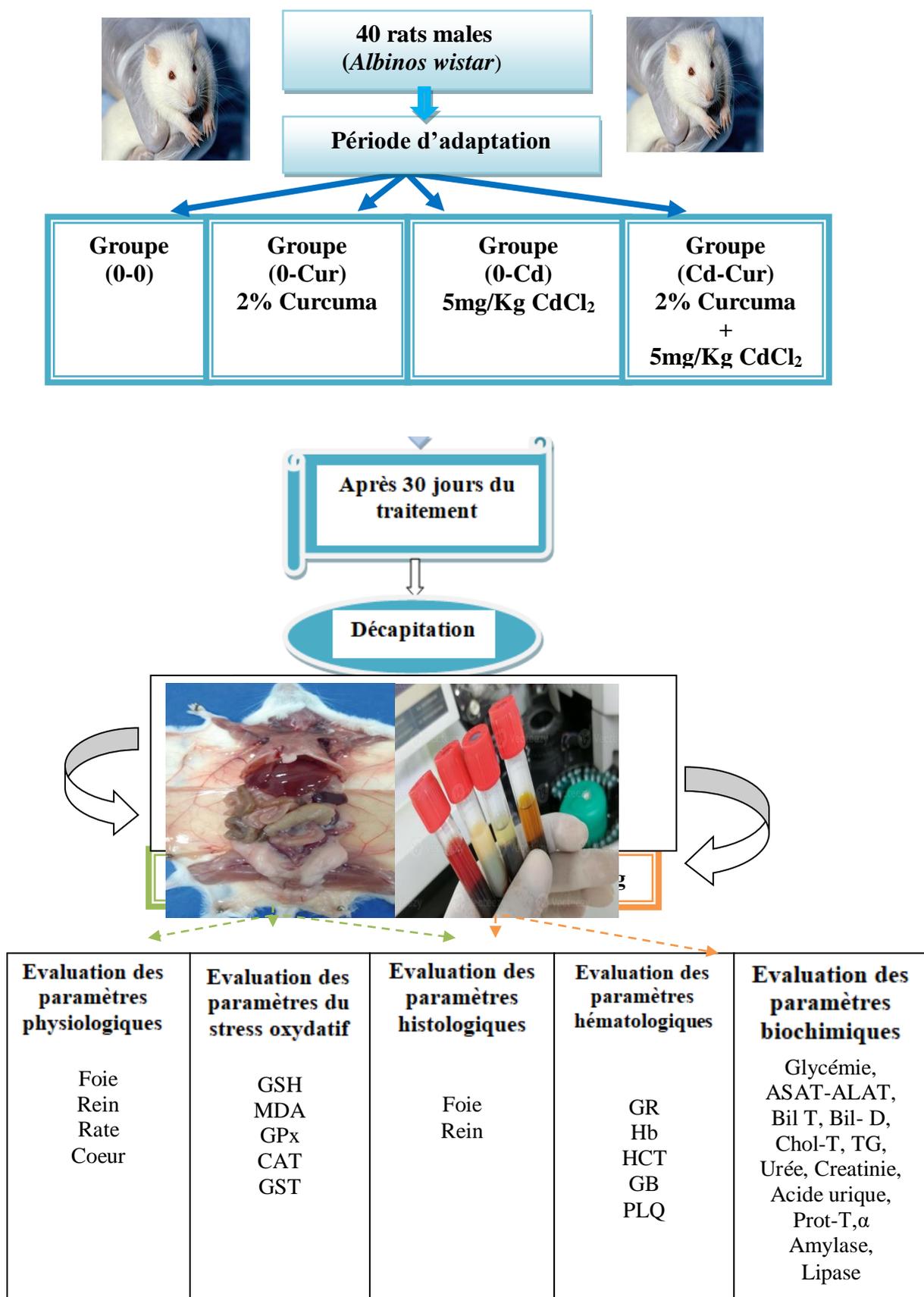


Figure 17: Schéma du protocole expérimental

## 4.7 Méthodes de dosage

### 4.7.1 Dosage des paramètres hématologiques

La mesure de la formule de numération sanguine (FNS) a été effectuée par un automate d'hématologie (MINDRAY bc-3200). Les tubes à EDTA contenant le sang ont été placés dans l'automate, et la mesure de la FNS commence. Au bout de 2 minutes les résultats s'affichent sur l'écran. Les paramètres hématologiques mesurés sont: globules rouges (GR), globules blancs (GB), hémoglobine (HGB), hématocrite (HCT), plaquettes (PLT), lymphocytes (LY), monocytes (MO), neutrophiles (NEUT), volume globulaire moyen des hématies (VGM), concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH), et teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH).

### 4.7.2 Dosage des paramètres biochimiques

Les paramètres biochimiques mesurés à l'aide d'un analyseur automatique de biochimie (pictus 1000) en utilisant des kits fournis par Spinreact (Espagne) pour estimer:

- ✓ le bilan hépatique: les transaminases (AST, ALT), le lactate déshydrogénase (LDH), la phosphatase alcaline (PAL), la bilirubine totale (BIL-T) et directe (BIL-D), les protéines totales ;
- ✓ le bilan rénal: l'urée, la créatinine et l'acide urique ;
- ✓ le bilan lipidique: le cholestérol, les triglycérides ;
- ✓ le bilan pancréatique :  $\alpha$  amylase, la lipase.

### 4.7.3 Dosage des paramètres du stress oxydant

#### 4.7.3.1 Mesure le taux du glutathion (GSH)

➤ **Préparation de l'homogénat pour le dosage de GSH:** 200 mg de tissu (foie, reins, cœur, rate, intestins et testicules) ont été mis en présence de 8 mL d'une solution d'acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA) à 0,02 M, puis ont été broyés à froid (4 °C) à l'aide d'un homogénéisateur ultrason pendant 30 secondes pour obtenir un homogénat.

➤ **Principe:** le dosage du glutathion a été réalisé selon la méthode de Weckbecker et Cory (1988). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela une déprotéinisation de l'homogénat est indispensable afin de garder uniquement les groupements thiol spécifiques du glutathion.

➤ **Mode opératoire**

- Prélever 0,8 mL de l'homogénat.
- Déprotéiniser en ajoutant 0,2 mL d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) à 0,25 %.
- Agiter le mélange et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
- Prélever 0,5 mL du surnageant.
- Ajouter 1 mL du tampon Tris + EDTA (0,4 M Tris + 0,02 M d'EDTA), pH 9,6.
- Mélanger et ajouter 0,025 mL de DTNB à 0,01 M (dissous dans le méthanol absolu).
- Laisser pendant 5 minutes à température ambiante pour la stabilisation de la couleur qui se développe instantanément.
- Lire les densités optiques (DO) à 412 nm contre le blanc.

➤ **Calcul:** la concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante:

$$[\text{GSH}] = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1,525 \times 1000}{13100 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg prot}}$$

GSH: nM GSH/ mg protéines.

DO: Densité optique.

1: Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0,8 mL homogénat + 0,2 mL SSA).

1,525: Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0,5 mL surnageant + 1 mL Tris + 0,025 mL DTNB).

13100: Coefficient d'absorbance du groupement -SH à 412 nm.

0,8: Volume de l'homogénat trouvé dans 1 mL.

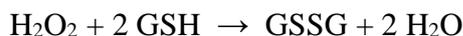
0,5: Volume du surnageant trouvé dans 1,525 mL.

**4.7.3.2 Mesure l'activité de la glutathion peroxydase (GPx)**

➤ **Préparation de l'homogénat pour le dosage de GPx:** 500 mg de foie ou de rein des différents groupes sont broyés à froid (4 °C) en présence de 5 mL d'une solution de tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4) à l'aide d'un homogénéisateur ultrason pendant 30 secondes pour obtenir un homogénat.

➤ **Principe:** l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de Flohé et Günzler (1984). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde

d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé à sa forme oxydée (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante:



➤ **Mode opératoire**

- Prélever 0,2 mL de l'homogénat.
- Ajouter 0,4 mL de GSH (0,1 mM).
- Ajouter 0,2 mL de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4).
- Incuber au bain marie à 25 °C, pendant 5 minutes.
- Ajouter 0,2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (1,3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 10 minutes.
- Ajouter 1 mL de TCA (1 %) pour arrêter la réaction.
- Mettre le mélange dans la glace pendant 30 minutes.
- Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours/minutes.
- Prélever 0,48 mL du surnageant.
- Ajouter 2,2 mL de la solution tampon TBS à pH 7,4.
- Ajouter 0,32 mL de DTNB (1 mM).
- Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc.

➤ **Calcul:** la détermination de l'activité enzymatique de la GPx se fait à l'aide de la formule suivante:

$$Q = \frac{(\text{DO échantillon} - \text{DO étalon}) \times 0.04}{\text{DO étalon}}$$

$$\text{GPx (nM GSH/min/mg prot)} = \frac{Q \times 1000}{\text{mg prot}}$$

Q: Quantité de GSH disparue (oxydée) dans 0,2 mL extrait dans 1 mL.

DO échantillon: Densité optique de l'échantillon.

DO étalon: Densité optique de l'étalon.

0.04: Concentration du substrat (GSH).

#### 4.7.3.3 Mesure de l'activité de la glutathion S-transférase (GST)

➤ **Préparation de l'homogénat pour le dosage de GST:** 500 mg de foie ou de rein des différents groupes sont broyés à froid (4 °C) en présence de 5 mL d'une solution de tampon TBS

(Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4) à l'aide d'un homogénéisateur ultrason pendant 30 secondes pour obtenir un homogénat.

➤ **Principe:** la mesure de l'activité des GSTs a été réalisée par la méthode de Habig *et al.*, (1974), celle-ci consiste à fournir à l'enzyme un substrat en général le 1-chloro,2,4-dinitrobenzène (CDNB), qui se conjugue facilement avec le glutathion sous l'action de nombreuses isoformes de GST. La réaction de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une nouvelle molécule qui absorbe la lumière à 340 nm.

➤ **Mode opératoire:** la méthode utilisée dans cette étude consiste à faire agir les GST contenues dans l'homogénat sur un mélange (GSH + CDNB) à une température de 37 °C et à un pH de 6,5. La variation de la densité optique, due à l'apparition du complexe GSH-CDNB, est mesurée cinétiquement pendant 1 minute durant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm. Cette cinétique est réalisée parallèlement dans le blanc et les échantillons contre la solution du tampon phosphate.

➤ **Réactifs**

	Blanc (µL)	Essai (µL)
<b>Tampon phosphate (0,1 M) pH 6,5</b>	850	830
<b>CDNB (0,02 M)</b>	50	50
<b>GSH (0,1 M)</b>	100	100
<b>Homogénat</b>	-	20

La valeur de la densité optique du blanc (conjugaison spontanée du substrat) a été ensuite retranchée de la valeur de chaque essai afin de mesurer la variation due uniquement à l'activité de l'enzyme.

➤ **Calcul:** l'activité enzymatique de la GST est obtenue par la formule suivante:

$$GST = \frac{(DO \text{ échantillon/min} - DO \text{ blanc/min})}{9,6 \times \text{mg prot}}$$

GST: nM GSH-CDNB/min/mg protéines.  
 DO échantillon/min: Densité optique de l'échantillon par minute.  
 DO blanc/min: Densité optique du blanc par minute.  
 9,6: Coefficient d'extinction du GSH-CDNB exprimé en  $\text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

#### 4.7.3.4 Mesure l'activité de la catalase (CAT)

➤ **Préparation de surnagent pour le dosage de CAT:** 500 mg de foie ou de rein des différents groupes sont broyés à froid (4 °C) en présence de 5 mL d'une solution de tampon phosphate (0,1 M; pH 7,4) à l'aide d'un homogénéisateur ultrason pendant 30 secondes pour obtenir un homogénat, ce dernier est centrifugé à 5000 tours/min pendant 15 minutes afin d'obtenir un surnagent.

➤ **Principe:** la méthode utilisée est celle d'Aebi (1984). La CAT catalyse la destruction du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. L'activité de la CAT a été mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, par la variation de la densité optique consécutive à la diminution du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à une température d'incubation de 25 °C.

➤ **Mode opératoire :**

➤ **Réactifs** **Blanc (µL)** **Essai (µL)**

<b>Tampon phosphate (0,1 M) pH7,5</b>	800	780
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,5 M)</b>	200	200
<b>Surnagent (S9)</b>	-	20

- Le zéro de l'appareil est réalisé par le tampon phosphate.
- La quantité de l'homogénat (S9) doit être déterminée en fonction de la quantité des protéines comprise entre 1 et 1,5 mg/mL, soit une quantité de 10 à 20 µL de S9 dilué.
- L'activité décroît rapidement, il est important de mettre toujours le même temps de pipetage et le moment où on place la cuve en quartz au spectrophotomètre.
- La lecture de l'absorption se fait après 15 secondes de délai et durant 60 secondes de mesure.

➤ **Calcul:** l'activité enzymatique de la CAT est calculée par la formule suivante:

$$CAT = \frac{\Delta DO \times 10}{\epsilon \times L \times X \times Fd}$$

CAT: µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/min/mg protéines.

ΔDO: Variation de la densité optique par minute.

ε: Coefficient d'extinction du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,04 mM<sup>-1</sup>.Cm<sup>-1</sup>).

L: Largeur de la cuve ou longueur du trajet optique (1 cm).

X: Quantité des protéines en mg/mL.

Fd: Facteur de dilution du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans le tampon (0,02).

**NB:** On note que le dosage de plusieurs paramètres (GSH, GPx, GST) est mesuré par rapport à 1 mg de protéines. C'est pour cela ce dosage doit être accompagné par le dosage des protéines.

#### 4.7.3.5 Dosage des protéines

➤ **Principe:** la concentration des protéines est déterminée selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu de Coomassie (G 250) comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amines (-NH<sub>2</sub>) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. L'apparition de cette couleur reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines dans l'échantillon.

#### ➤ **Mode opératoire**

- Prélever 0,1 mL de l'homogénat.
- Ajouter 5 mL du réactif de Bradford.
- Agiter et laisser reposer 5 min pour la stabilisation de la couleur.
- Lire la densité optique à 595 nm, contre le blanc.
- La densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée.

➤ **Calcul:** la concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovin (BSA) réalisée dans les mêmes conditions (voir annexe 99).

#### 4.7.4 Etude histologique

Les coupes histologiques ont été réalisées au niveau du service d'anatomopathologie de l'hôpital El Bouni, Annaba, (Algérie). La technique utilisée est celle décrite par Houlot (1984), qui comporte les étapes suivantes :

##### 4.7.4.1 Fixation

Elle a pour but d'immobiliser les structures cellulaires tout en conservant leurs morphologies. Le temps de la fixation est essentiel pour la réussite de la technique histologique. Elle doit être réalisée rapidement après la décapitation des rats et prélèvement des organes. Des fragments de foie et de rein (surface 1 à 2 cm<sup>2</sup> et épaisseur 2 mm) ont été alors mis dans le liquide de Bouin alcoolique (voir préparation aux annexes) qui constitue de fixateur classique le plus utilisé. Il permet de durcir l'échantillon sans l'abîmer. Après 48 heures de fixation les pièces d'organes

sont retirées du Bouin puis rincées à l'eau distillée. Les échantillons sont placés dans des cassettes spéciales à parois trouées afin de permettre le passage des liquides au cours des manipulations qui suivent.

### 4.7.4.2 Déshydratation

Comme la paraffine n'est pas miscible à l'eau, les échantillons doivent être alors complètement déshydratés avant l'inclusion dans la paraffine. Cette dernière n'est pas soluble dans l'alcool utilisé pour la déshydratation, on assiste donc à une substitution par le xylène. La déshydratation se fait grâce à un automate qui fait immerger les échantillons dans des bains d'éthanol à concentration croissante (70, 95 et 100 %), puis dans des bains de xylène qui constitue un agent éclaircissant donnant au tissu une certaine transparence. Ensuite, dans l'étuve le xylène s'évapore des pièces anatomiques. Cette étape est réalisée par un appareil appelé le circulateur.

### 4.7.4.3 Inclusion et réalisation des blocs

Elle ne peut être satisfaisante que si l'échantillon est complètement déshydraté et ne contient plus de solvant intermédiaire (alcool). Les pièces sont alors plongées (2 heures) dans des bains de paraffine liquide fondue à 60 °C. Les échantillons étant imbibés de paraffine viennent alors 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. Cette opération fait appel à des appareils «dits à inclusion» refermant un réservoir de paraffine maintenue à l'état liquide par un système de chauffage, un petit robinet et une plaque métallique réfrigérée pour obtenir la solidification rapide (10 à 15 min) du bloc de paraffine contenant le tissu. La réalisation des coupes minces de quelques microns (5 µm en moyenne) est possible grâce à des appareils spéciaux appelés «Microtomes». Ces coupes sont étalées sur des lames porte-objet, dépliées et fixées sur la lame par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

### 4.7.4.4 Confection des coupes histologiques

Les blocs de paraffine sont préalablement taillés avant de subir des coupes au microtome de 4 à 5 µm. Les rubans de paraffine obtenus sont étalés sur des lames porte-objet, puis dépliés et fixés par une eau gélatineuse chauffée à 40 °C. Les lames sont marquées au nom des différents lots à l'aide d'un crayon d'argent, ensuite séchées dans une étuve à 100 °C pendant 1 heure.

### 4.7.4.5 Coloration et montage

Pour la coloration, on a utilisé la technique à l'Hématoxyline-Eosine (HE); qui nécessite la

présence de l'alcool acide (100 mL d'alcool éthylique à 70 % + 50 mL d'acide HCl), eau ammoniacale (100 mL d'eau distillée + 2 mL Ammoniaque) et solution d'Eosine (100 mL Eosine solution aqueuse à 3 %, 125 mL alcool éthylique à 95 %, 375 mL d'eau distillée et 2 gouttes d'acide acétique). La coloration suit les étapes suivantes:

- Déparaffiner et hydrater les lames à l'eau du robinet puis rincer à l'eau distillée.
- Immerger les coupes dans un bain d'hématoxyline de Harris (15 minutes) qui colore en bleu violacé les structures basophiles (noyaux). Rincer à l'eau courante.
- Différencier les coupes dans l'alcool acide (1 à 2 plongées); déposer ensuite les lames dans un bain d'eau du robinet et vérifier la différenciation au microscope.
- Bleuir dans un bain d'eau ammoniacale.
- Immerger les coupes dans un bain d'Eosine (15 secondes à 2 minutes) qui colore en rose les structures acidophiles (cytoplasme). Tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau du robinet.

Le montage consiste à fixer une lamelle en verre sur les coupes histologiques après coloration.

Cette étape permet la:

- Protection mécanique des coupes.
- Protection chimique des colorants.

Les préparations ont ensuite été séchées puis observées au microscope optique équipé d'un appareil photographique. La figure 18 illustre quelques étapes de la réalisation des coupes histologiques.



Fixation dans le Bouin



Coupe transversale



Cassette

Fixation des organes dans le formol



Circulateur



Appareil à inclusion

Réalisation des blocs de parrafine



Moule Leukart



Réalisation d'un bloc



Plaque réfrigérée



Solidification du bloc



Dégrossir un bloc



Réalisation d'un ruban

Fixation des coupes sur les lames



Lames sur plaque chauffante



Bacs de coloration



Lame colorée

Coloration des lames

Figure 18: Quelques étapes de l'étude histologique

### 4.7.5 Analyse statistique des résultats

Toutes les données ont été exprimées en moyenne  $\pm$  SEM. Les valeurs ont été déterminées par une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) suivie par comparaisons multiples de Tukey. Le logiciel GraphPad Prism 5.0 a été utilisé pour effectuer les statistiques et dessiner les graphiques (GraphPad Software, Inc., San Diego, USA). Des valeurs de  $p < 0,05$ ,  $< 0,01$  et  $< 0,001$  ont été considérées comme statistiquement significatives, hautement significatives et très hautement significatives, respectivement (Fisher et Yates 1974).



# *Chapitre 5:*

## *Résultats*

## Chapitre 5 : Résultats

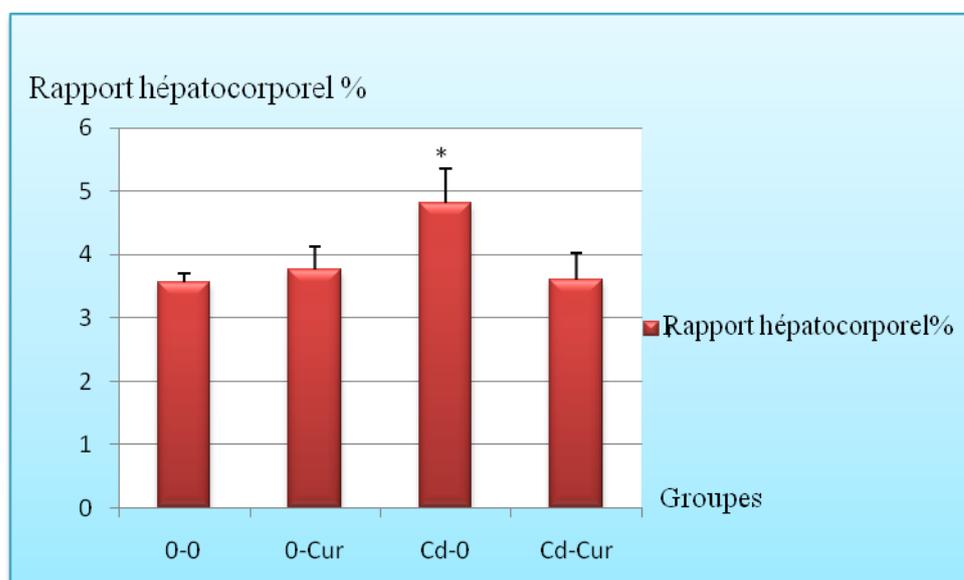
## 5.1 Résultats de l'étude pondérale

## 5.1.1 Influence du traitement sur la croissance corporelle

Le tableau 5 montre les changements de poids corporel des rats témoins et des rats traités quotidiennement avec du chlorure de cadmium et/ou du curcuma pendant 30 jours. Les résultats obtenus n'ont montré aucun changement significatif dans la croissance physiologique des rats du groupe traité par rapport au groupe témoin. Les rations alimentaires n'ont pas changé et les rats ont conservé un appétit normal et ont ainsi maintenu leur poids corporel.

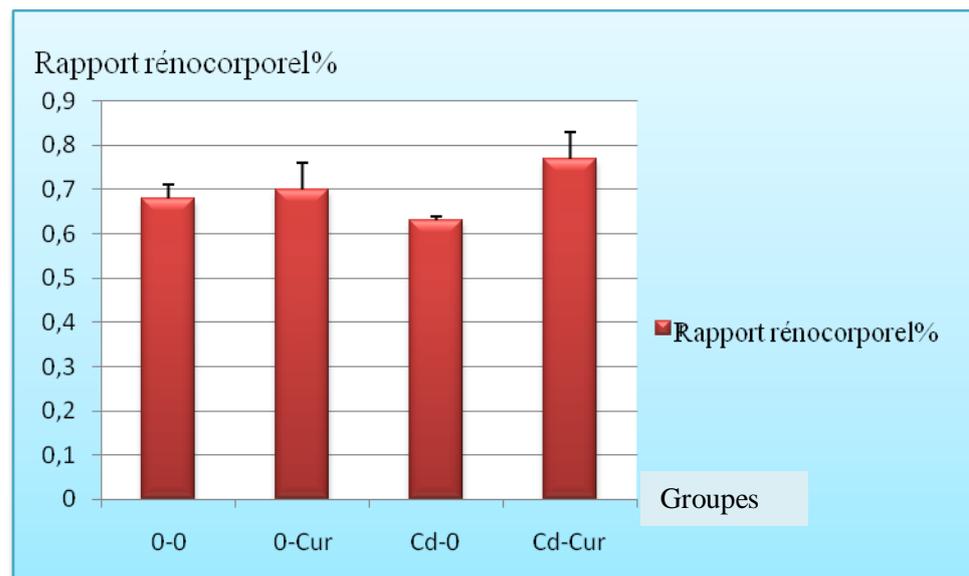
## 5.1.2 Influence du traitement sur les rapports organocorporels

Après l'étude statistique, des changements dans le poids des organes par rapport à 100 g de poids corporel a montré une augmentation significative du rapport hépatocorporel, splénocorporel et cardiocorporel chez le groupe traités au chlorure de cadmium (Cd-0) par rapport au groupe témoin (0-0). Dans ce cas, il n'y a eu aucun changement dans le rapport rénocorporel par rapport au groupe témoin (0-0). (Figure 19, Figure 20, Figure 21, Figure 22)

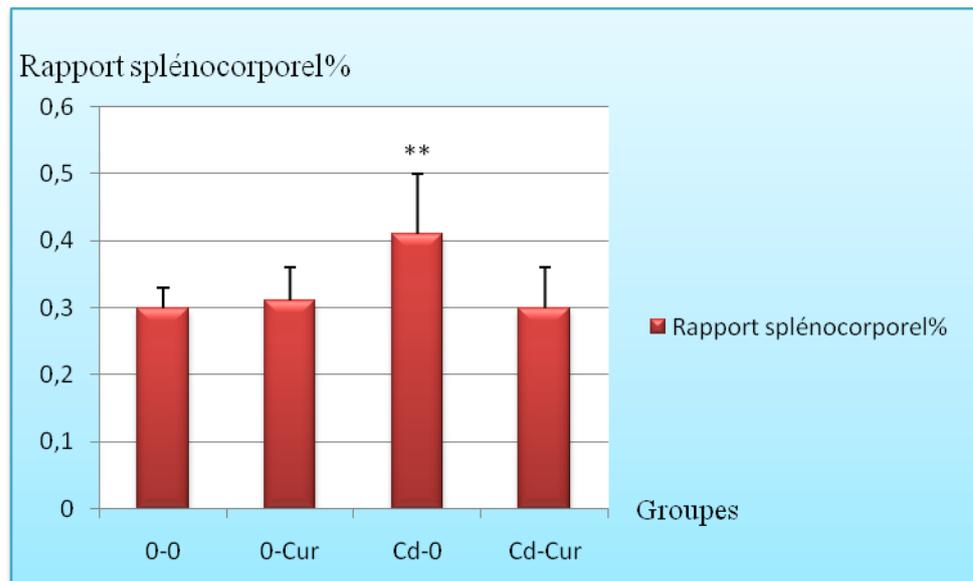


**Figure 19: Variations du rapport hépatocorporel (%) chez les rats témoins et traités par le Chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* après 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*  $P \leq 0.05$ : différence significative par rapport aux témoins (0-0).

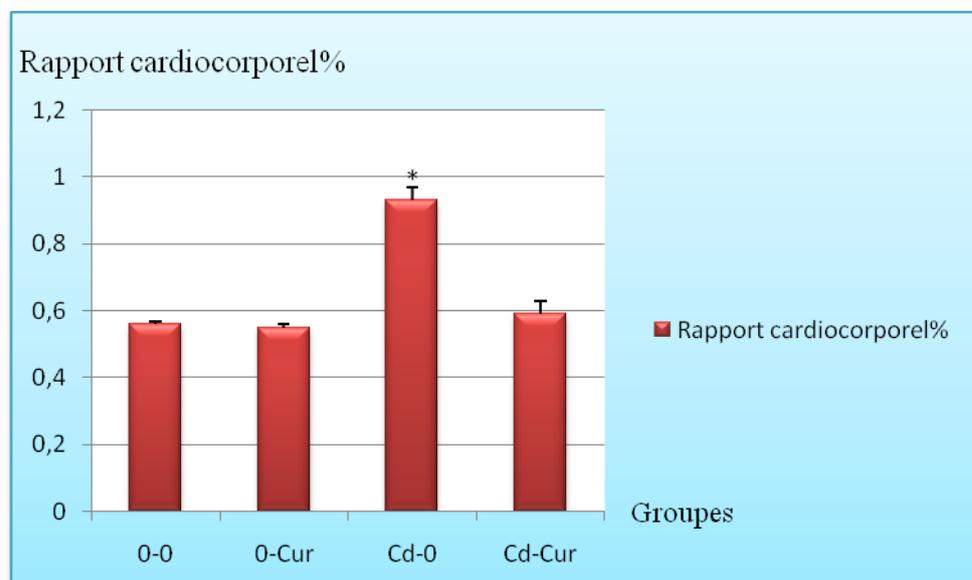


**Figure 20: Variations du rapport rénocorporel (%) chez les rats témoins et traités par le Chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* après 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**



**Figure 21: Variations du rapport splénoCorporel (%) chez les rats témoins et traités par le Chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* après 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*\*  $P \leq 0.01$ : différence significative par rapport aux témoins (0-0).

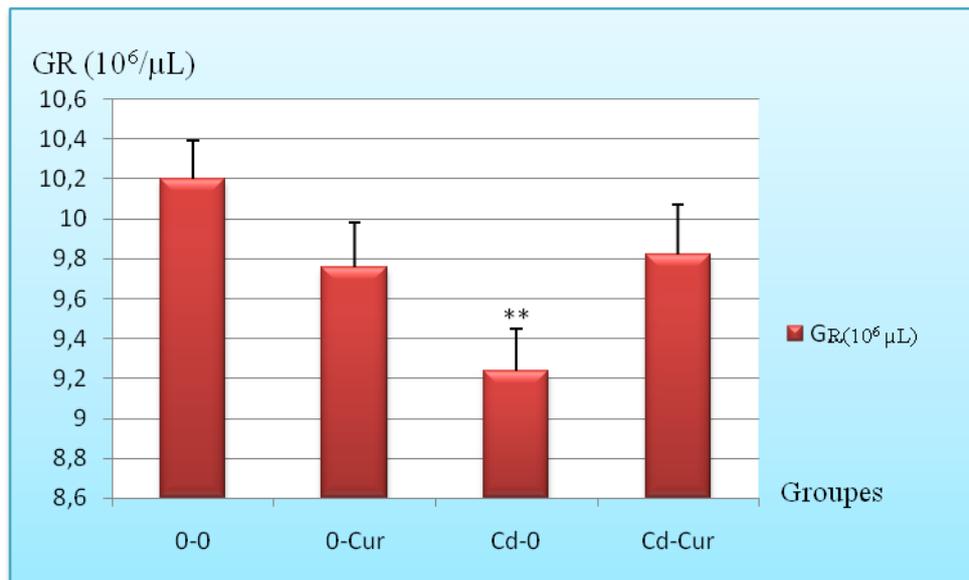


**Figure 22: Variations du rapport cardioCorporel (%) chez les rats témoins et traités par le Chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* après 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*  $P \leq 0.05$ : différence significative par rapport aux témoins (0-0).

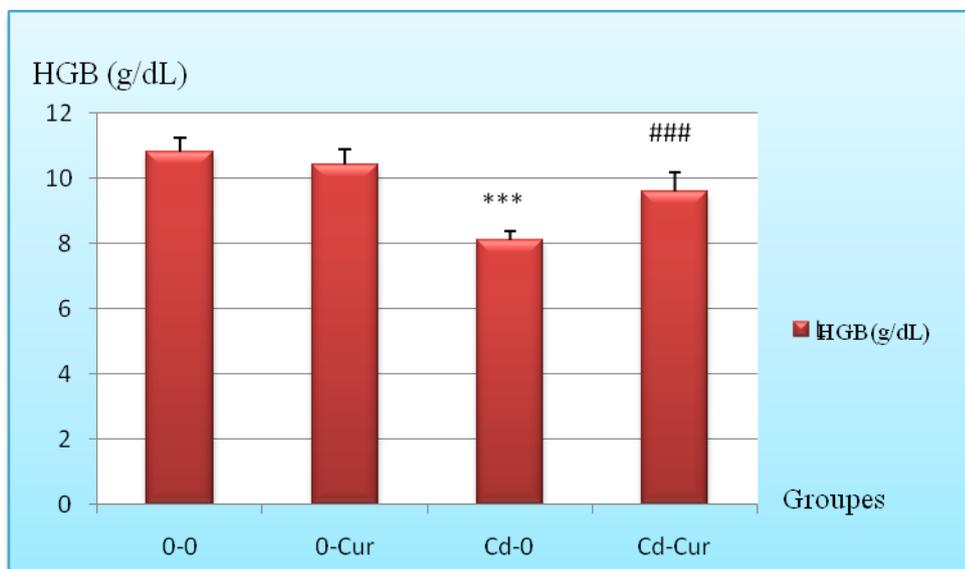
### 5.2 Résultats de l'étude hématologique

Les résultats illustrent que la supplémentation du curcuma dans le régime alimentaire (0-Cur) par rapport au groupe (0-0) n'a révélé aucun changement significatif de la formule numérique sanguine (FNS). Toutefois, le traitement des rats par le chlorure de cadmium (Cd-0) a démontré une diminution significative des valeurs de l'ensemble des paramètres hématologiques en comparant aux rats témoins (0-0). L'association du curcuma avec le cadmium (Cd-Cur) pourrait protéger les rats de l'effet nocif du cadmium en maintenant les paramètres hématologiques à des valeurs proches de celles des témoins en comparant avec le lot (Cd-0). Les figures (23, 24 ; 25, 26, 27, 28) suivantes illustrent les effets du traitement des rats par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* sur le bilan hématologique.



**Figure 23: Variation du nombre des globules rouges (10<sup>6</sup>/μL) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne ± SEM, n=10)**

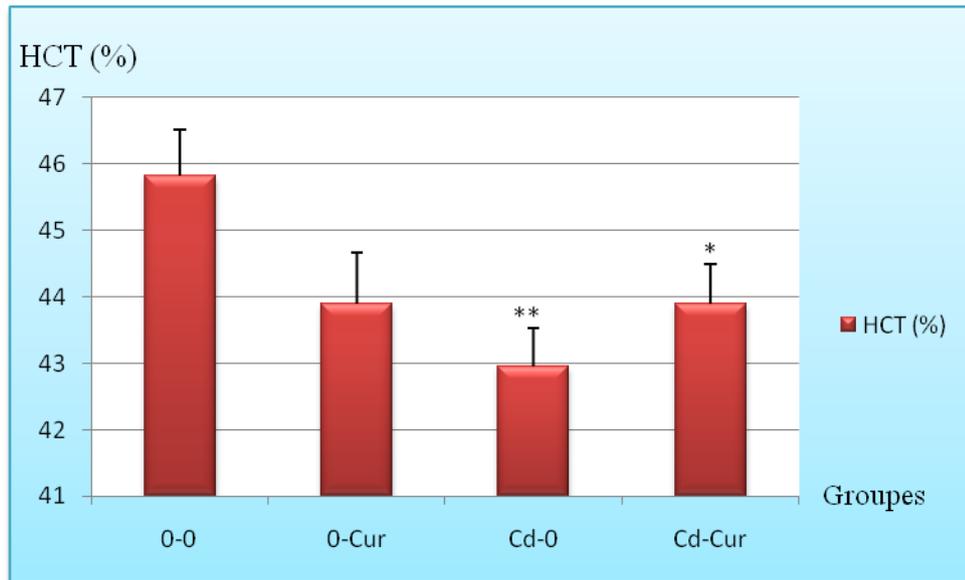
\*\* P ≤ 0.01: différence significative par rapport aux témoins (0-0).



**Figure 24: Variation du taux d'hémoglobine (g/dl) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne ± SEM, n=10)**

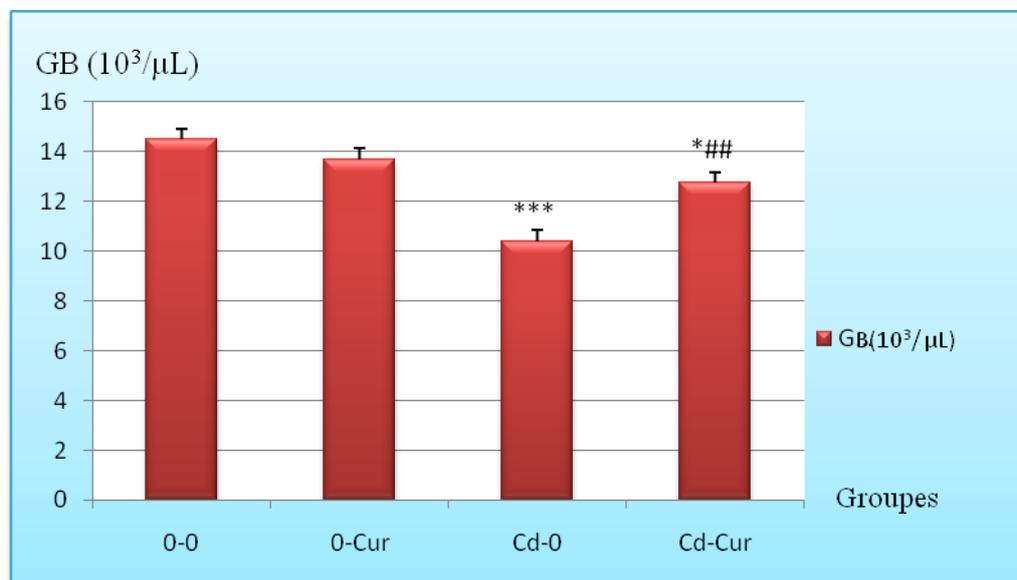
\*\*\* P ≤ 0.001: différence significative par rapport aux témoins (0-0).

### P ≤ 0.001: différence significative par rapport au groupe (Cd-0).



**Figure 25: Variation du pourcentage de l'hématocrite chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

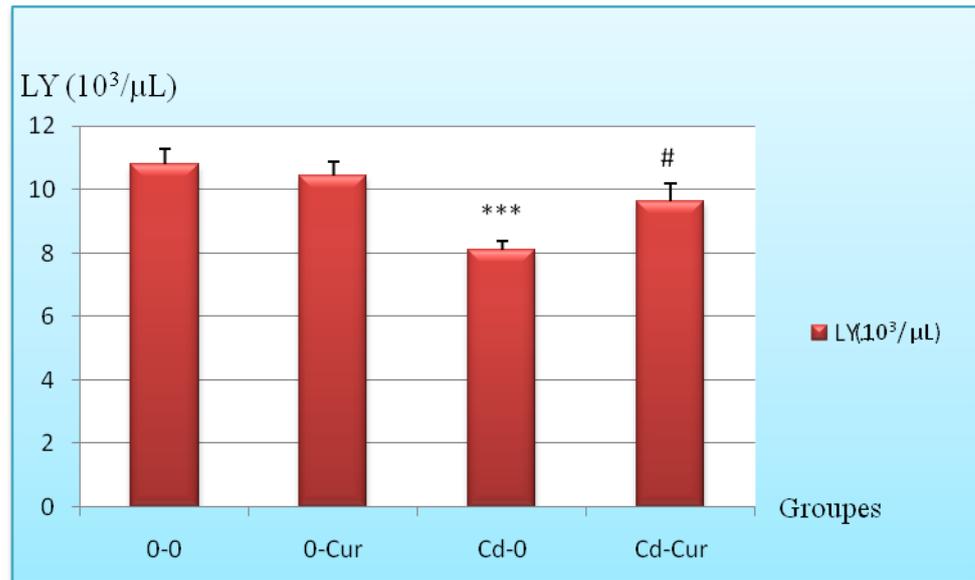
\*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ : différence significative par rapport aux témoins (0-0).



**Figure 26: Variation du taux des globules blancs ( $10^3/\mu\text{L}$ ) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*  $P \leq 0.05$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$ : différence significative par rapport aux témoins (0-0).

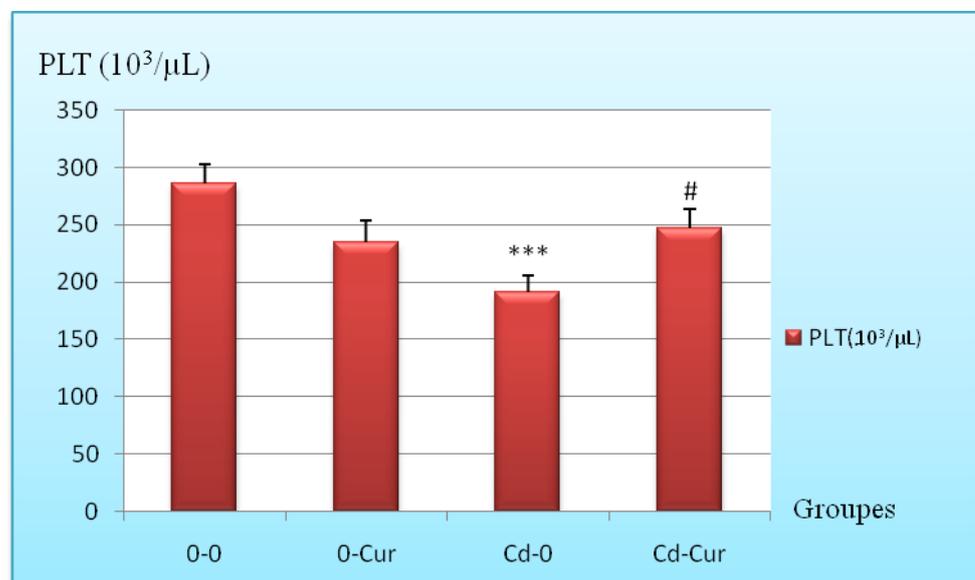
##  $P \leq 0.01$ : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).



**Figure 27: Variation du taux des lymphocytes ( $10^3/\mu\text{L}$ ) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*\*\*  $P \leq 0.001$ : différence significative par rapport aux témoins (0-0).

#  $P \leq 0.05$ : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).



**Figure 28: Variation du taux des plaquettes ( $10^3/\mu\text{L}$ ) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

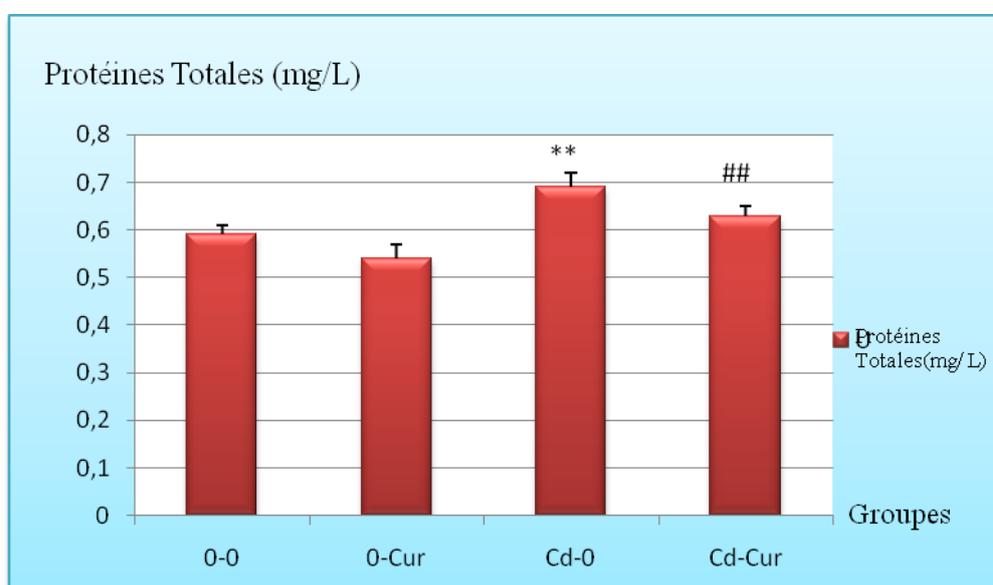
\*\*\*  $P \leq 0.001$ : différence significative par rapport aux témoins (0-0).

#  $P \leq 0.05$ : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).

### 5.3 Résultats de l'étude biochimique

#### 5.3.1 Influence du traitement sur la fonction rénale

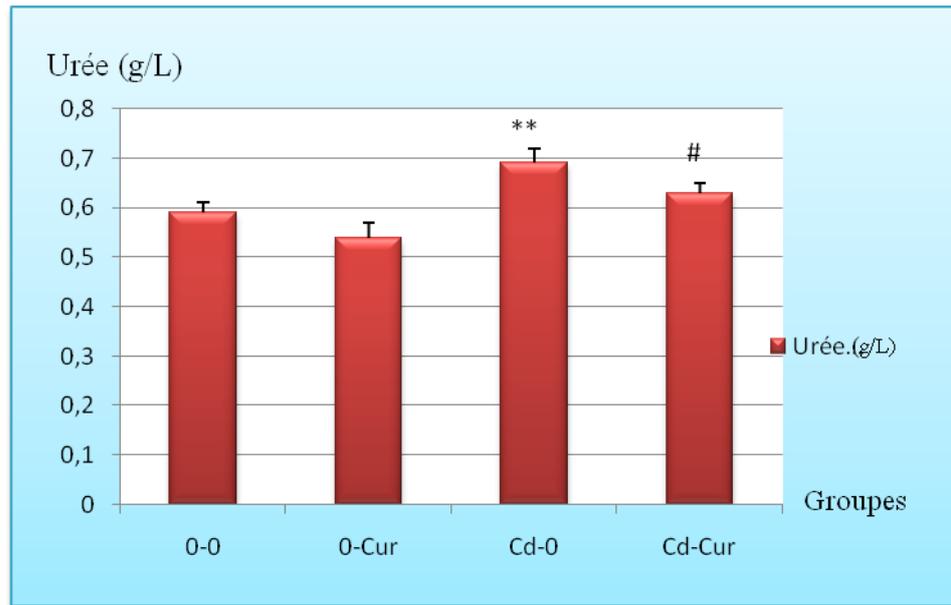
Par rapport au groupe témoin (0-0), l'exposition au cadmium dans le groupe (Cd-0) a provoqué une augmentation significative des niveaux des protéines totales, de la créatinine, de l'urée et de l'acide urique. À l'inverse, les résultats ont montré une amélioration des mêmes paramètres biochimiques après l'administration de curcuma dans le groupe (Cd-Cur) par rapport au groupe traité au cadmium (Cd-0). Les figures (29, 30, 31, 32) montrent les effets du traitement des rats par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* sur la fonction rénale.



**Figure 29: Variation de la concentration sérique des protéines totales (mg/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*\*  $P \leq 0.01$ : différence significative par rapport aux témoins (0-0).

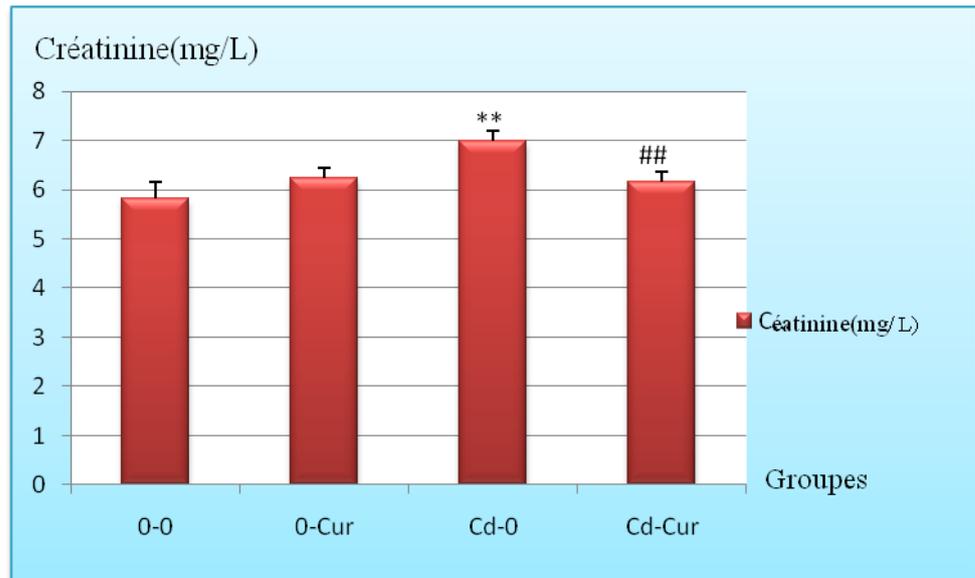
##  $P \leq 0.01$  : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).



**Figure 30 : Variation de la concentration sérique de l'urée (g/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*\*  $P \leq 0.01$ : différence significative par rapport aux témoins (0-0).

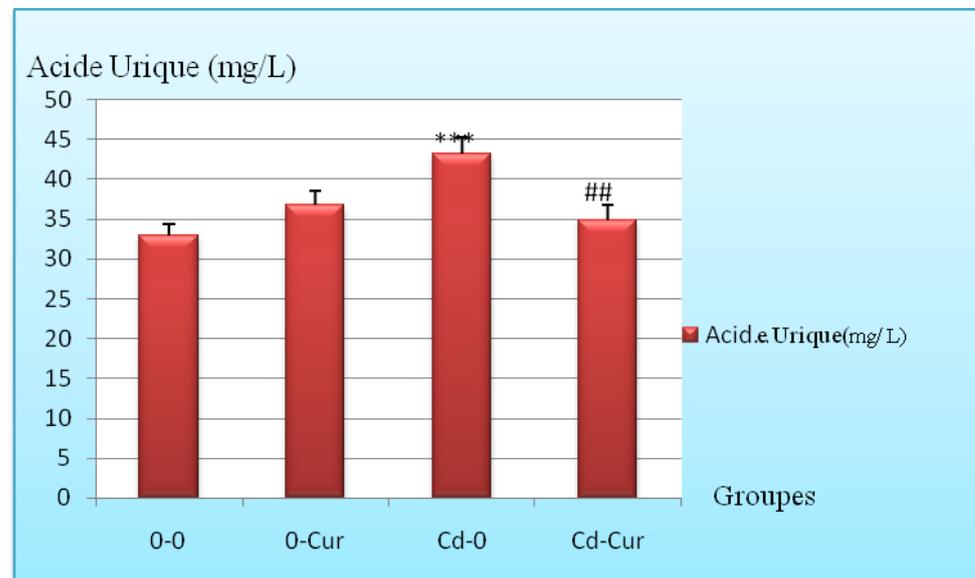
#  $P \leq 0.05$ : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).



**Figure 31: Variation de la concentration sérique de la créatinine (mg/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*\*  $P \leq 0.01$ : différence significative par rapport aux témoins (0-0).

##  $P \leq 0.01$ : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).



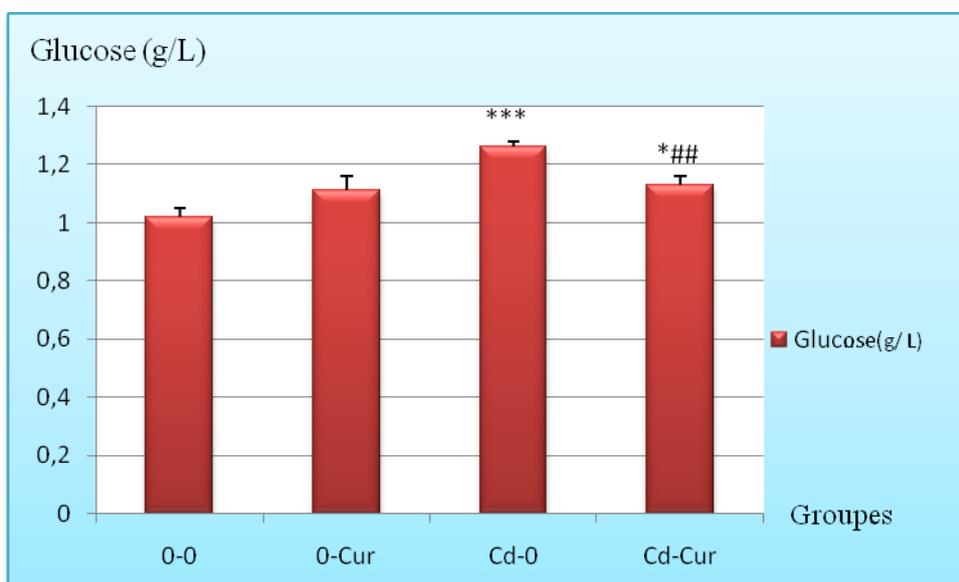
**Figure 32: Variation de la concentration sérique de l'acide urique (mg/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*\*\*  $P \leq 0.001$ : différence significative par rapport aux témoins (0-0).

##  $P \leq 0.01$ : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).

### 5.3.2 Influence du traitement sur le bilan pancréatique

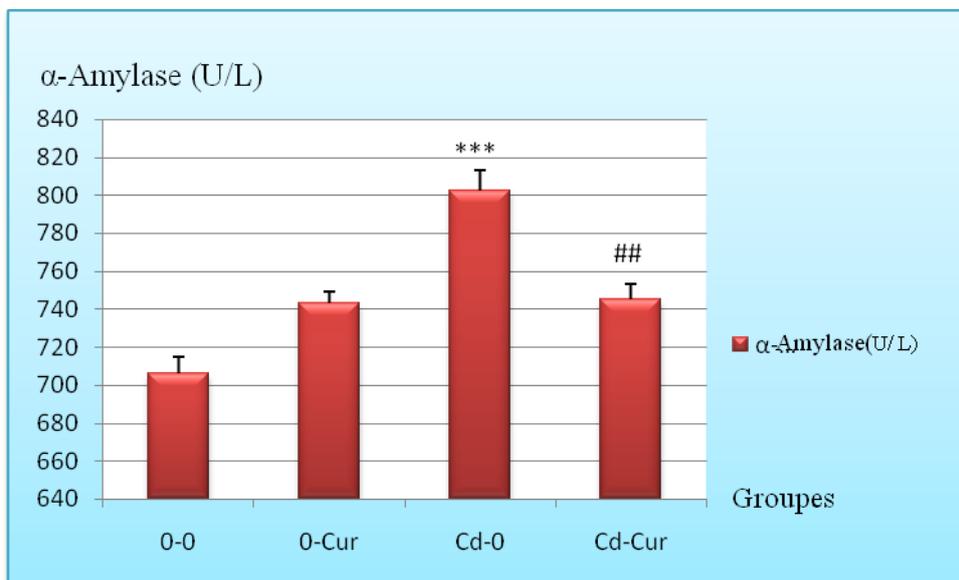
Comme le montre les figures (33, 34, 35) une augmentation significative a été observée dans le niveau de glucose, les activités  $\alpha$ -amylase et lipase chez les rats traités au cadmium (Cd-0) par rapport au groupe témoin (0-0). L'ajout de curcuma chez les rats (Cd-Cur) a atténué les niveaux accrus de ces paramètres et a diminué les effets nocifs du cadmium comparativement au groupe (0-0) et (Cd-0) .



**Figure 33: Variation de la concentration sérique du glucose (g/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*  $P \leq 0,05$ , \*\*\*  $P \leq 0,001$  : différence significative par rapport au groupe témoin (0-0).

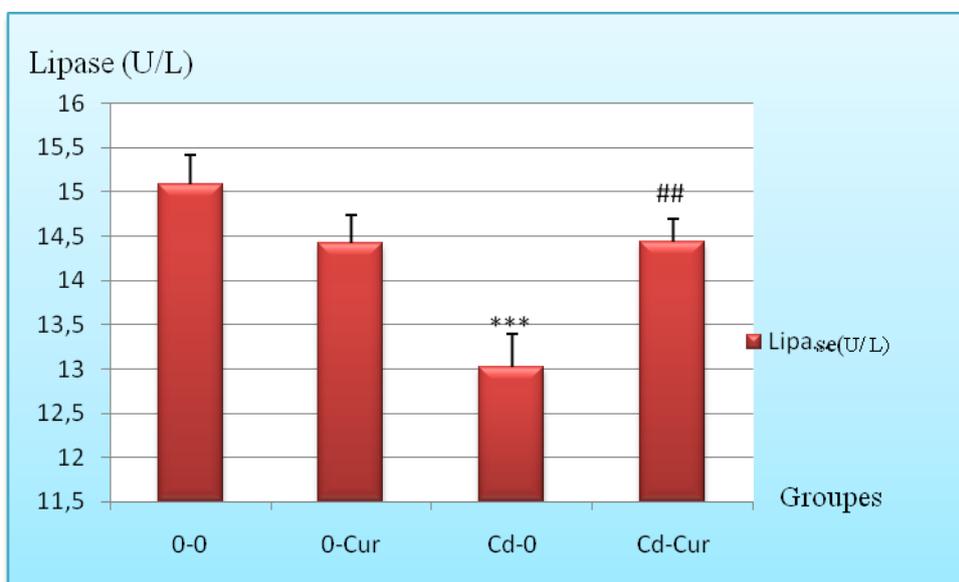
##  $P \leq 0,01$  : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).



**Figure 34: Variation de l'activité de l' $\alpha$ -Amylase (UI/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*\*\*  $P \leq 0,001$  : différence significative par rapport au groupe témoin (0-0).

##  $P \leq 0,01$  : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).



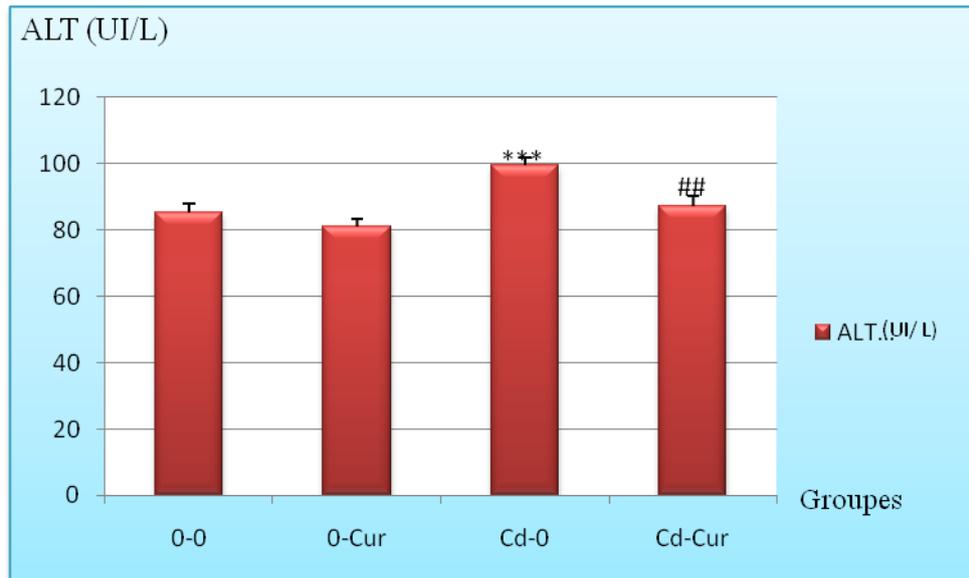
**Figure 35: Variation de l'activité de la lipase (U/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*\*\*  $P \leq 0,001$  : différence significative par rapport au groupe témoin (0-0).

##  $P \leq 0,01$  : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).

### 5.3.3 Influence du traitement sur le bilan hépatique

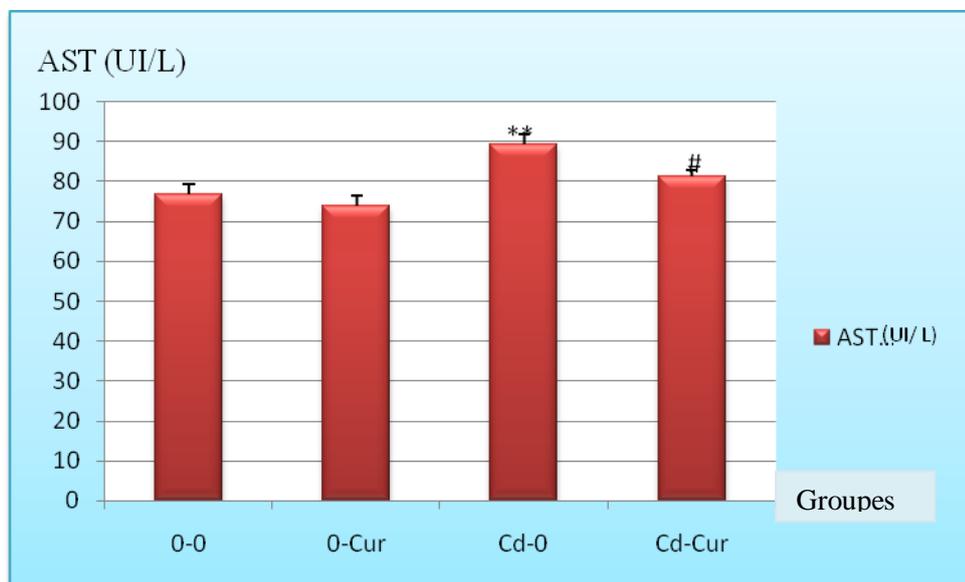
Les résultats concernant la détermination du profil hépatique, présentés et les figures (36, 37, 38, 39, 40, 41) affirment l'existence d'un énorme trouble métabolique et d'une hépatotoxicité du cadmium qui s'est clairement exprimée dans le groupe (Cd-0). Il a été rapporté une augmentation significative des activités des enzymes sériques ALT, AST, ALP, LDH et des concentrations sériques de bilirubine totale et directe par rapport au groupe témoin (0-0). Alors que la supplémentation en curcuma dans le régime alimentaire du groupe (Cd-Cur) a amélioré ces biomarqueurs et restauré la fonction hépatique par rapport aux groupes témoins (0-0) et (Cd-0).



**Figure 36: Variation de l'activité de l'alanine amino-transférase (UI/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*\*\*  $P \leq 0,001$  : différence significative par rapport aux témoins (0-0).

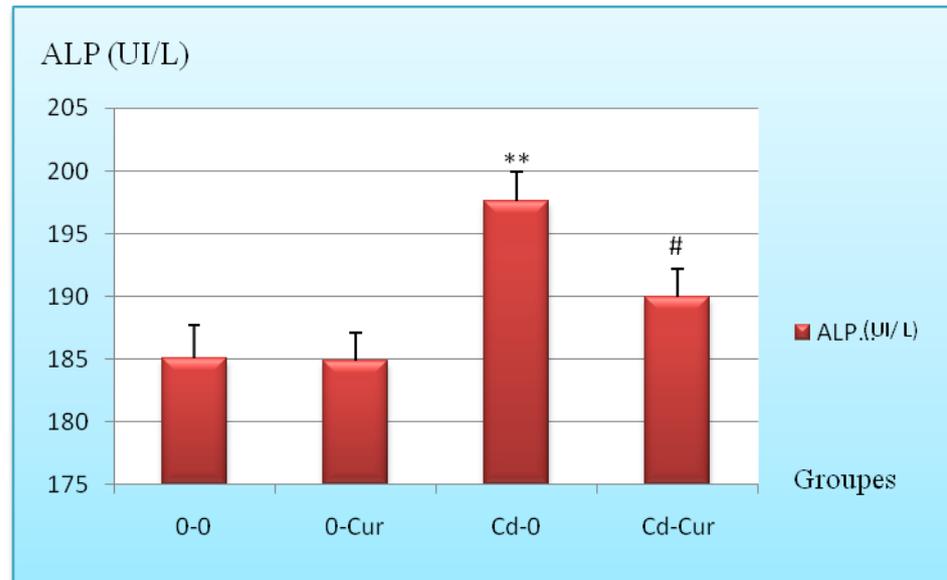
##  $P \leq 0,01$  : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).



**Figure 37: Variation de l'activité de l'aspartate aminotransférase (UI/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*\*  $P \leq 0,01$  : différence significative par rapport aux témoins (0-0).

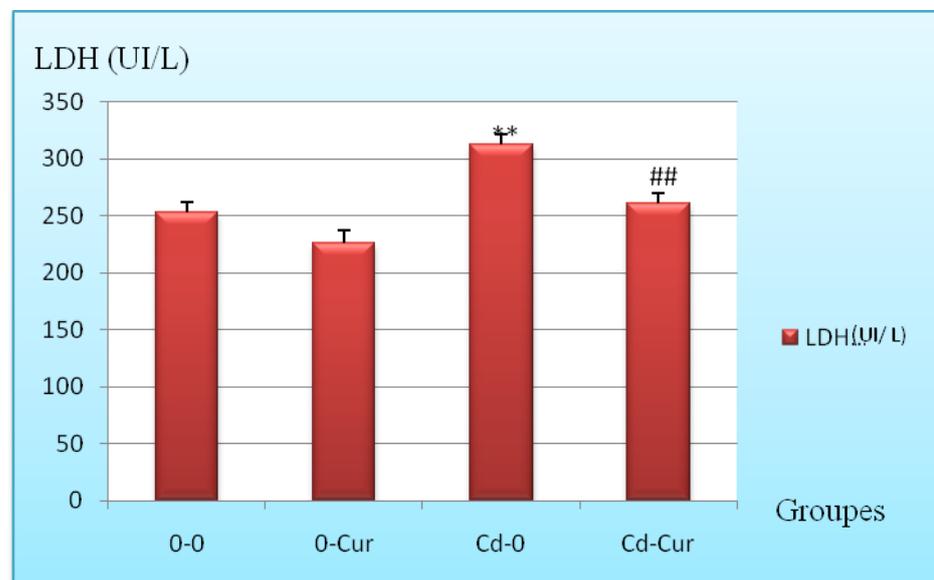
#  $P \leq 0,05$  : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).



**Figure 38: Variation de l'activité de la phosphatase alcaline (UI/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*\*  $P \leq 0,01$  : différence significative par rapport aux témoins (0-0).

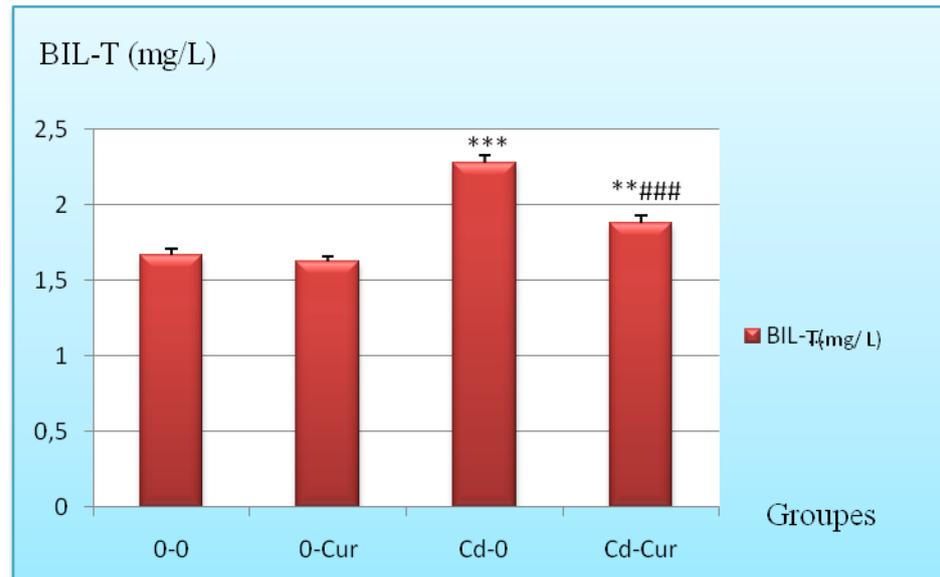
#  $P \leq 0,05$  : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).



**Figure 39: Variation de l'activité de la lactate déshydrogénase (UI/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*\*  $P \leq 0,01$  : différence significative par rapport aux témoins (0-0).

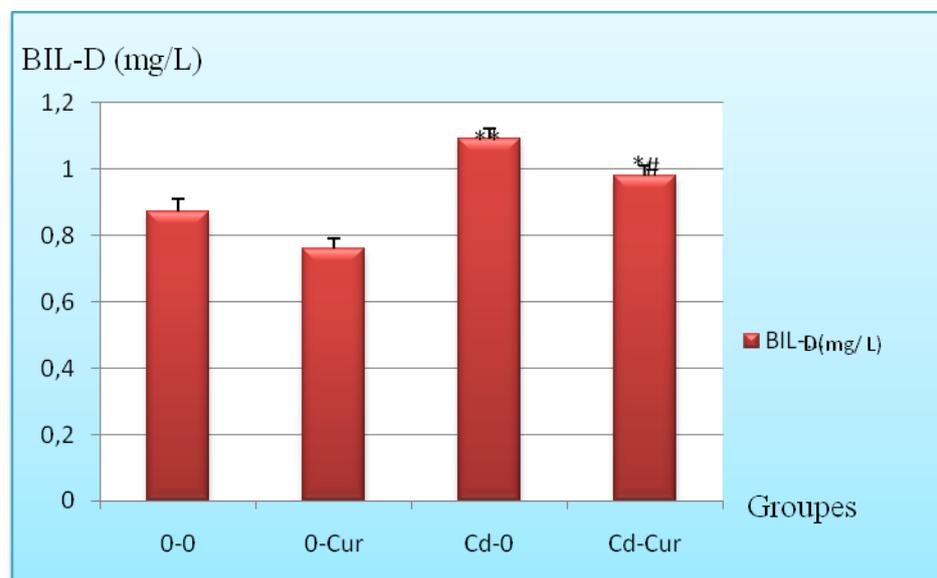
##  $P \leq 0,01$  : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).



**Figure 40: Variation de la concentration de la bilirubine totale (mg/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*\*  $P \leq 0,01$ , \*\*\*  $P \leq 0,001$  : différence significative par rapport aux témoins (0-0).

###  $P \leq 0,001$  : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).



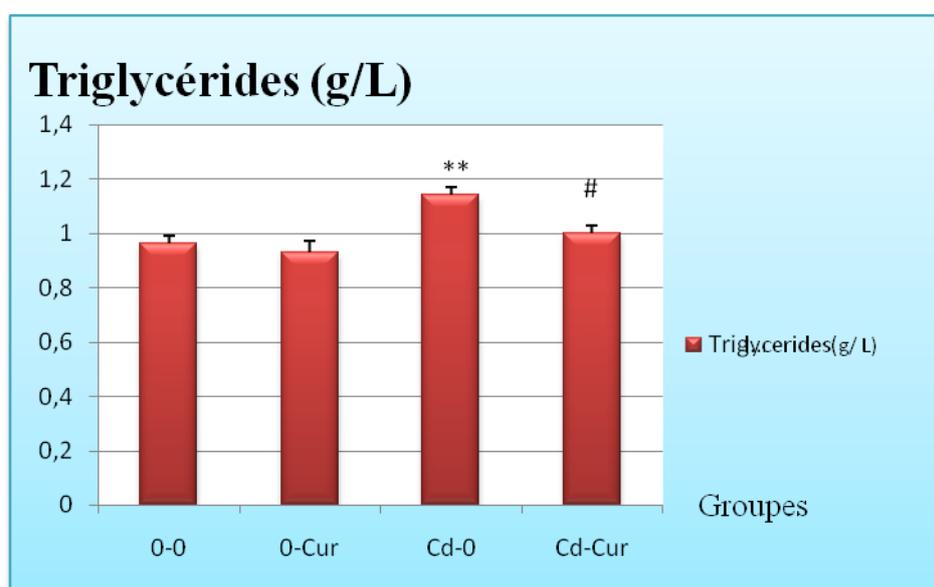
**Figure 41: Variation de la concentration de la bilirubine directe (mg/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*  $P \leq 0,05$ , \*\*  $P \leq 0,01$  : différence significative par rapport aux témoins (0-0).

#  $P \leq 0,05$  : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).

### 5.3.4 Influence du traitement sur le bilan lipidique

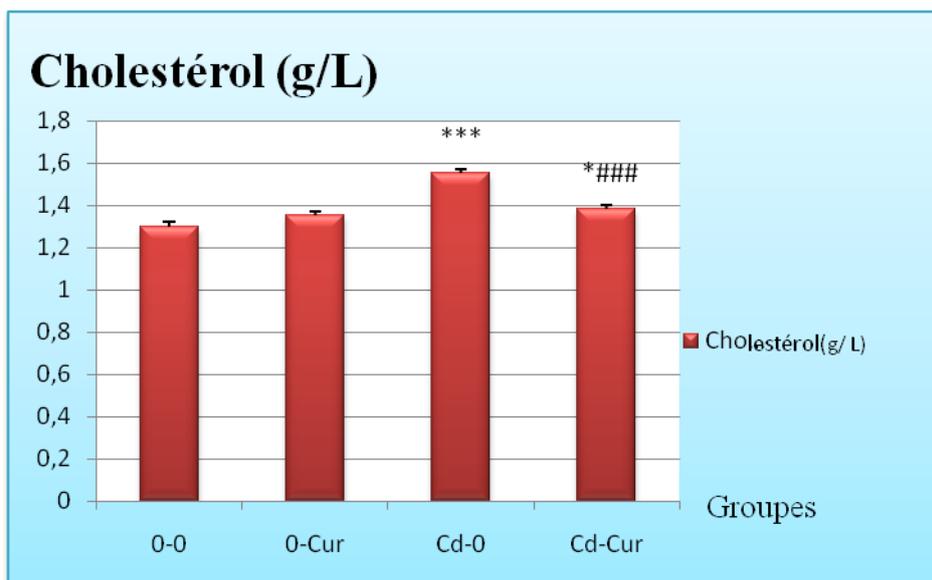
Comme le montre les figures (42, 43), les rats traités avec du chlorure de cadmium (Cd-0) ont manifesté une augmentation des concentrations sériques de cholestérol (CHL) et de triglycérides (TG) par rapport au témoin (0-0). L'ajout de curcuma (Cd-Cur) a atténué les niveaux accrus de ces biomarqueurs et a diminué les effets nocifs du cadmium comparativement aux groupes témoins (0-0) et (Cd-0).



**Figure 42: Variation du taux des triglycérides (g/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*\*  $P \leq 0,01$  : différence significative par rapport aux témoins (0-0).

#  $P \leq 0,05$  : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).



**Figure 43: Variation du taux de cholestérol (g/L) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*  $P \leq 0,05$ , \*\*\*  $P \leq 0,001$ : différence significative par rapport aux témoins (0-0).

####  $P \leq 0,001$ : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).

#### 5.4 Résultats des paramètres du stress oxydant

L'évaluation du stress oxydatif était basée sur la mesure de certains biomarqueurs tels que GSH, MDA, GST, GPx et CAT dans différents organes. Le traitement au chlorure de cadmium (Cd-0) a entraîné une diminution significative du statut en glutathion dans tous les organes étudiés (foie, rein, cœur, rate, testicules et intestins) par rapport au groupe témoin (0-0) (Figure 44). En revanche, chez les mêmes rats traités, le niveau de MDA dans le foie et les reins a augmenté de manière significative par rapport au groupe témoin (0-0) (Figure 45). L'ajout de curcuma dans l'alimentation des rats traités au cadmium (Cd-Cur) minimise la toxicité du cadmium en ramenant le niveau de GSH et de MDA à la normale par rapport au groupe (Cd-0).

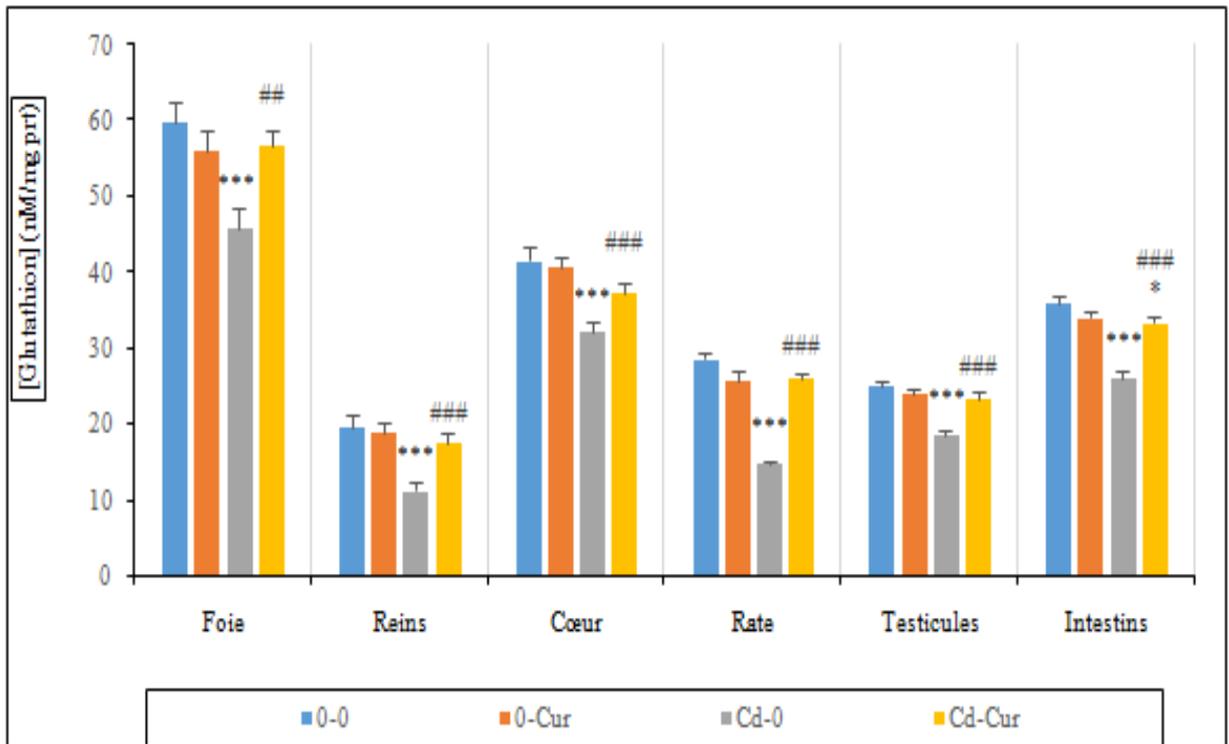


Figure 44 : Teneur en glutathion tissulaire (nM/mg prt) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne ± SEM, n=10)

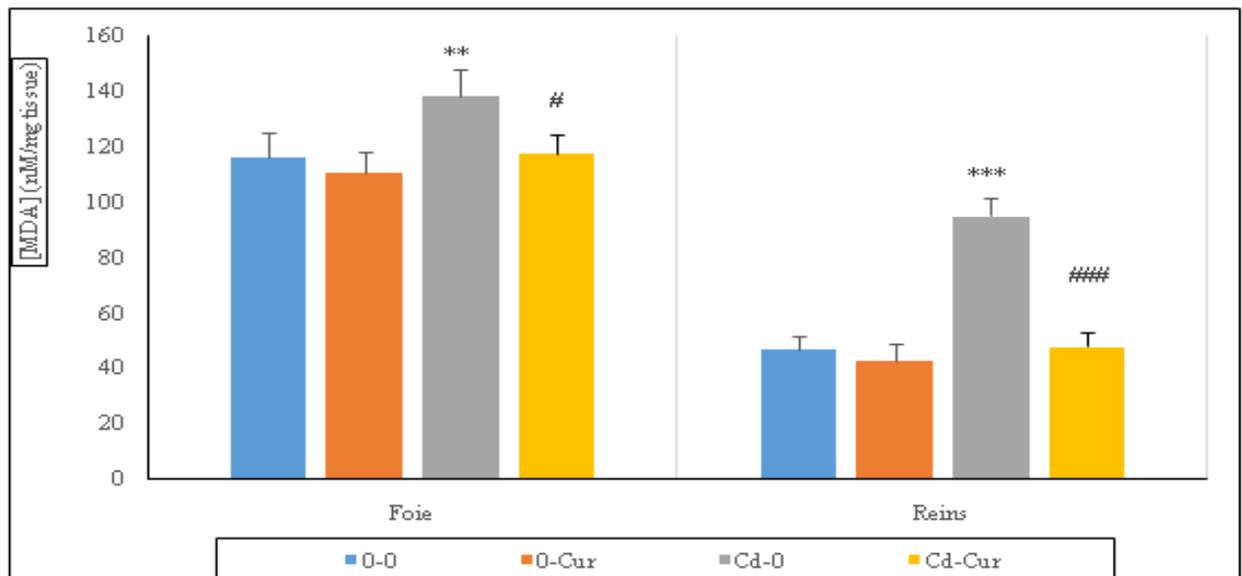
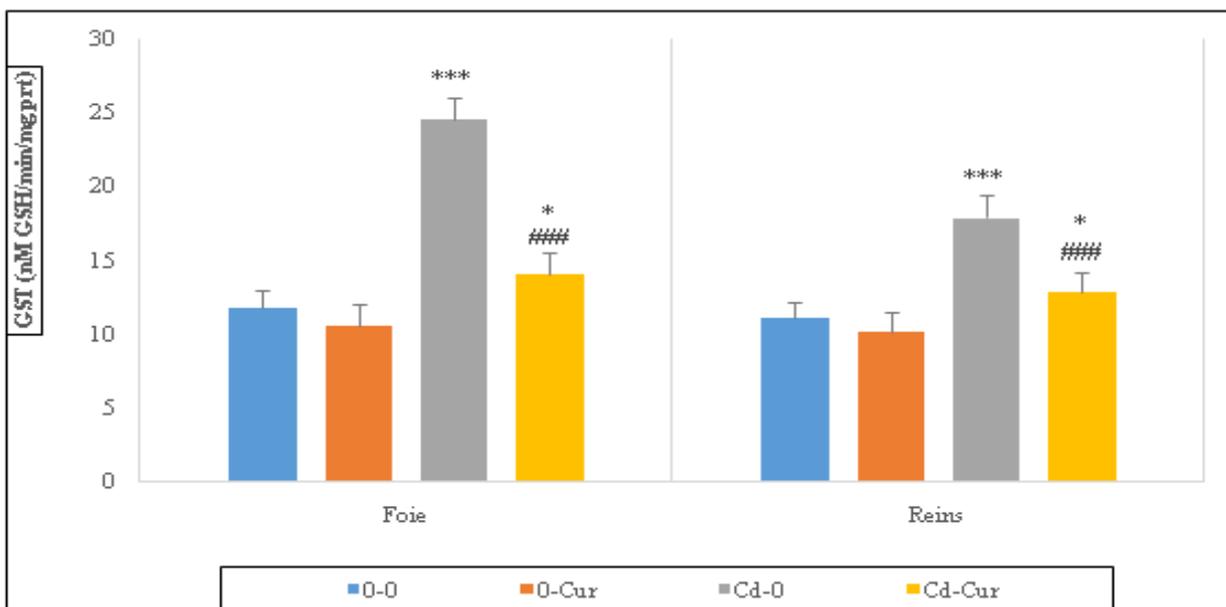


Figure 45: Teneurs hépatiques et rénales en malondialdéhyde (nM/mg tissu) chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne ± SEM, n=10)

\*  $P \leq 0,05$ , \*\*\*  $P \leq 0,001$ : différence significative par rapport au groupe témoin (0-0).

##  $P \leq 0,01$ , ###  $P \leq 0,001$ : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).

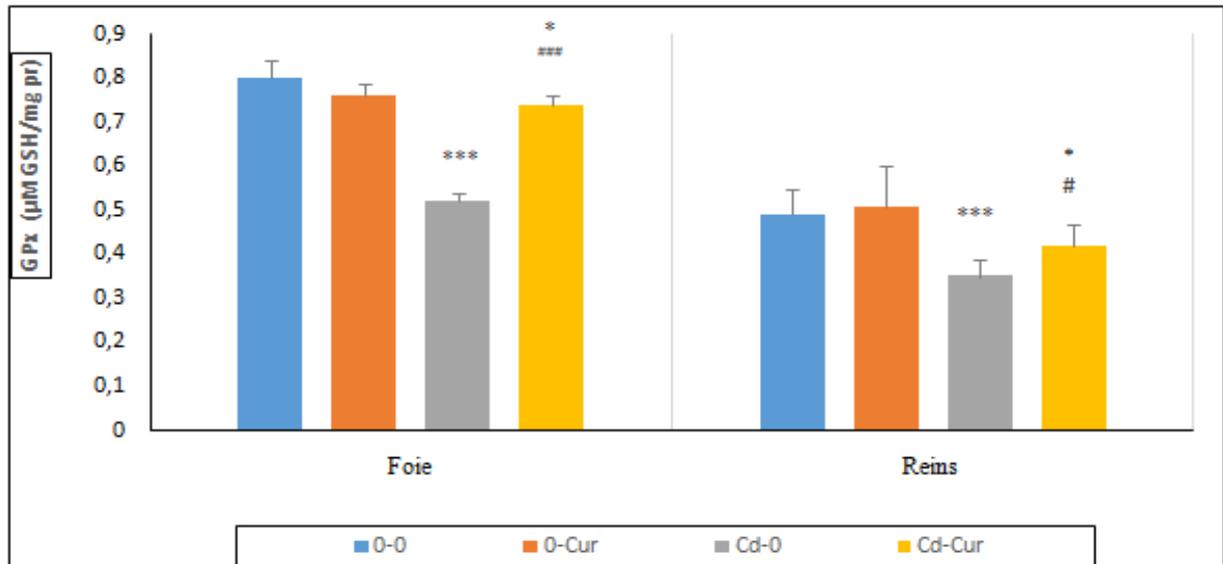
Le dosage des enzymes antioxydantes (GST, GPx et CAT) dans les tissus hépatiques et rénaux a révélé une perturbation de leurs activités chez les rats traités au chlorure de cadmium (Cd-0), (Figure 46, 47 et 48); exprimée par une diminution significative de la GPx et de la CAT, et une augmentation significative de la GST dans les deux organes étudiés par rapport au groupe témoin (0-0). Cette perturbation des activités enzymatiques était moins notée lorsque le curcuma a été ajouté avec du chlorure de cadmium (Cd-Cur) par rapport aux groupes témoins (0-0) et (Cd-0).



**Figure 46: Activité de la glutathion S-transferase (nM GSH/min/mg protéines) hépatique et rénale chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*\*  $P \leq 0,01$ , \*\*\*  $P \leq 0,001$  : différence significative par rapport au groupe témoin (0-0).

#  $P \leq 0,05$ , ###  $P \leq 0,001$  : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).



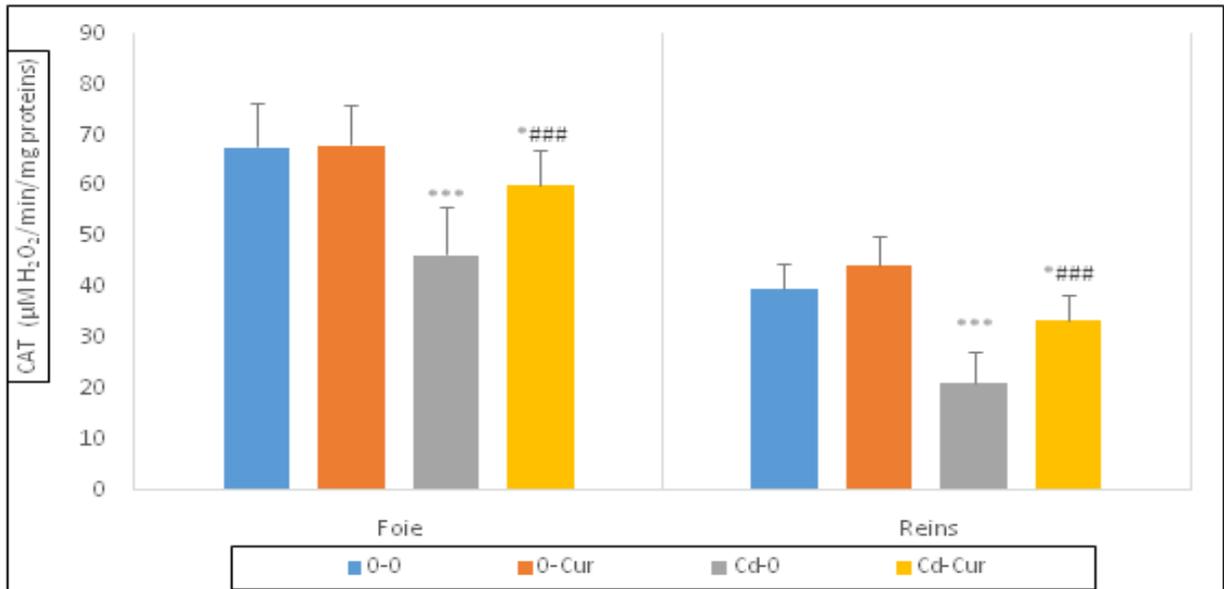
**Figure 47: Activité de la glutathion peroxydase ( $\mu\text{M}$  GSH/mg protéines) hépatique et rénale chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

\*  $P \leq 0,05$ , \*\*\*  $P \leq 0,001$  : Différence significative par rapport au groupe témoin (0-0).

#  $P \leq 0,05$ , ###  $P \leq 0,001$  : Différence significative par rapport au groupe (Cd-0).

\*  $P \leq 0,05$ , \*\*\*  $P \leq 0,001$ : différence significative par rapport au groupe témoin (0-0).

###  $P \leq 0,001$  : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).



**Figure 48: Activité de la catalase ( $\mu\text{M H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg protéines}$ ) hépatique et rénale chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium et/ou le *Curcuma longa* pendant 30 jours (moyenne  $\pm$  SEM, n=10)**

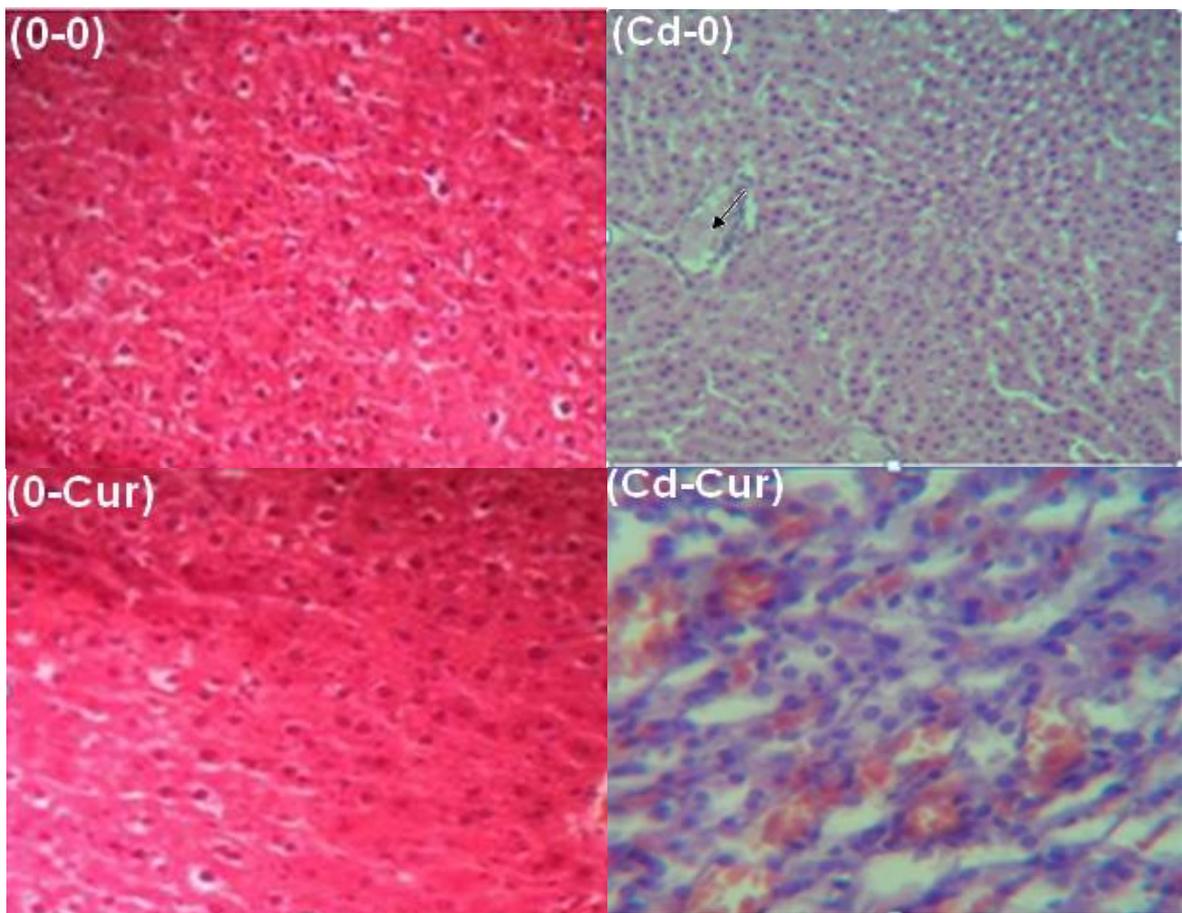
\*  $P \leq 0,05$ , \*\*\*  $P \leq 0,001$ : différence significative par rapport au groupe témoin (0-0).

###  $P \leq 0,001$  : différence significative par rapport au groupe (Cd-0).

### 5.5 Résultats de l'étude histologique

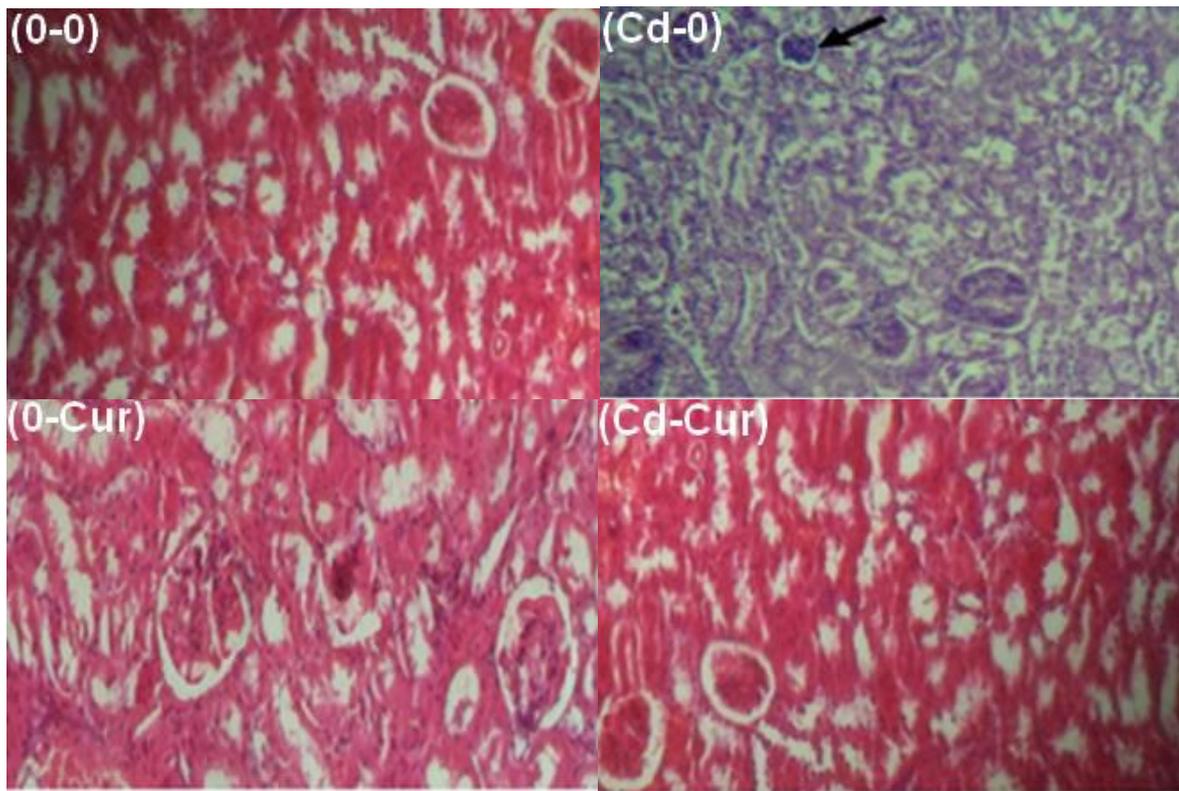
#### 5.5.1 Etude histologique hépatique et rénale

Les coupes des tissus hépatiques et rénaux (Figure 49 et 50) des rats traités par Cd (Cd-0) pendant une période de 30 jours ont présenté des altérations pathologiques. Dégénérescence des hépatocytes précisément au niveau de la vacuole et le noyau qui est volumineux, élargissant ainsi la forme des hépatocytes accompagné d'une dégénérescence tubulaire rénale. Les coupes histologiques hépatiques et rénales des rats nourris au curcuma (Cd-Cur) ont montré un aspect normal des hépatocytes, les glomérules et les tubules des reins semblaient se régénérer par rapport aux témoins.



**Figure 49 : Coupes histologique hépatiques des rats témoins et traités par le chlorure de cadmium pendant 30 jours .Microscopie optique( $\times 100$ )**

( $\rightarrow$ ) dégénérescence vaculaire et granulaire)



**Figure 50 : Coupes histologique hépatiques des rats témoins et traités par le chlorure de cadmium pendant 30 jours .Microscopie optique( $\times 100$ )**

( $\rightarrow$  dégénérescence tubulair)

*Chapitre 6 :*  
*Discussion*

---

## Chapitre 6 : Discussion

La toxicité aux métaux lourds et surtout le cadmium peut entraîner différents troubles métaboliques affectant la santé et la vie humaine. Cette toxicité est toujours associée à la production accrue des radicaux libres en causant un stress oxydant (Lu *et al.*, 2017). Afin d'éviter le coût élevé des médicaments et leurs effets secondaires, beaucoup de traitements alternatifs naturels à base de plantes médicinales sont utilisés. Ces plantes se caractérisent par leurs multiples actions thérapeutiques et antioxydantes qui peuvent diminuer les effets délétères du stress oxydant induit par les métaux lourds (Al-Ishaq *et al.*, 2019).

Notre étude scientifique a comme objectif de dévoiler les effets antioxydants et protecteurs d'une plante médicinale le *Curcuma longa*, contre les perturbations métaboliques, oxydatives et histologiques causées par le chlorure de cadmium.

Au regard des résultats trouvés, nous avons constaté que la variation de tous les paramètres étudiés au niveau du groupe (0-Cur), n'a pas été significative par rapport au groupe témoin (0-0). Ceci peut probablement indiquer l'effet non toxique du *Curcuma longa* puisque le métabolisme cellulaire, l'état oxydatif cellulaire ainsi que l'architecture histologique des tissus, n'ont pas été affectés par la supplémentation du curcuma. Les 2% de curcuma utilisés ne sont donc pas toxiques et n'ont pas présentés d'effets néfastes sur les rats.

L'exposition des rats au cadmium n'a produit aucun signe de mortalité ni de perte de poids corporels, ceci est probablement attribué à la durée de l'exposition au Cd (30 jours) qui n'était pas suffisante pour affecter une variation significative au niveau du poids corporel. Concernant les rapports organosomatiques, nous avons remarqué une augmentation des rapports hépatosomatique, splénosomatique et cardiosomatique chez le groupe des rats traités par le cadmium (Cd-0). Ceci s'explique d'une part par l'hypertrophie tissulaire de ces organes provoquée par ce métal, et d'autre part par la forte accumulation du métal lui-même dans ces organes cibles (Messaadia *et al.*, 2013). Toutefois, la supplémentation de l'alimentation par le curcuma au niveau du groupe (Cd-Cur) a entraîné une amélioration des rapports organosomatiques par rapport au groupe (Cd-0). Cette amélioration est due à l'effet protecteur du curcuma contre la toxicité du cadmium comme l'explique l'étude de Kalahasthi *et al.*, (2006).

Suite à l'exposition au Cd, la formule numérique sanguine (FNS) a été perturbée. Nos résultats ont présenté des variations significatives des paramètres hématologiques au niveau du groupe de rats (Cd-0) comparativement aux rats témoins. Globalement, il semble que le cadmium a causé une anémie qui pourrait être le résultat d'une destruction accélérée des

érythrocytes en raison de la perméabilité altérée de la membrane érythrocytaire, d'une fragilité mécanique accrue et/ou d'une défaillance de l'absorption intestinale du fer ( $\text{Fe}^{2+}$ ) suite aux lésions des muqueuses (Yuan *et al.*, 2014). Hanson *et al.*, (2012) ont expliqué que l'exposition prénatale au Cd peut induire une déficience au niveau du système immunitaire altérant la production postnatale du nombre des lymphocytes T. Par ailleurs, plusieurs études ont documenté les effets immunosuppresseurs du Cd sur le système immunitaire (Ikram *et al.*, 2004). Le Cd induit des états d'autoimmunité par une production accrue d'anticorps non spécifiques et une production réduite d'anticorps spécifiques à l'antigène (Ohsawa, 2009). Andjelkovic *et al.*, (2019) ont trouvé des résultats similaires après le traitement des rats par le cadmium. Ils justifient la diminution des globules blancs par une destruction excessive de ces cellules par ce métal lourd. Cependant, la raison de la diminution des globules rouges, de l'hémoglobine et les plaquettes pourrait être une hémolyse intravasculaire. L'un des mécanismes possibles de l'hémolyse causée par le traitement aigu au Cd est l'induction d'un stress oxydatif suite à la production des radicaux libres et à la peroxydation lipidique (Hounkpatin *et al.*, 2017). Cependant, au niveau du groupe traité par le curcuma (Cd-Cur), nous avons observé une restauration de l'état hématologique dans ces valeurs normales par rapport au groupe (Cd-0). Le curcuma peut exercer ses actions protectrices contre l'hématotoxicité induite par le cadmium chez le rat, éventuellement par le biais de ses mécanismes antioxydants (Attia *et al.*, 2014).

L'évaluation de la fonction rénale a été exprimée par l'augmentation significative des concentrations des protéines totales, de l'urée sérique, de la créatinine et de l'acide urique chez les rats (Cd-0). Ce résultat est un signe de dysfonctionnement rénal et de filtration glomérulaire (Kehili *et al.*, 2017). Abdelaziz *et al.*, (2012) ont également trouvé des résultats similaires et ont rapporté dans leur littérature que les dommages rénaux causés par le cadmium sont représentés par l'augmentation des niveaux des biomarqueurs rénaux sériques. Gabr *et al.*, (2019) ont commenté que la toxicité rénale peut être attribuée à une production anormale de radicaux libres oxydatifs. Ces derniers causent des dommages aux cellules rénales (Kumar and Sharma, 2019). Cette toxicité touche principalement le segment S1 de la partie proximal des tubules rénaux et par conséquent des signes cliniques peuvent apparaître comme le syndrome de Fanconi qui se caractérise par des défauts observables dans la réabsorption des protéines, des acides aminés, du glucose, du bicarbonate et du phosphate. Ces défauts sont dus aux dommages oxydatifs induits par le Cd sur les protéines de transport allant même jusqu'à l'apoptose des cellules tubulaires (Fujiwara *et al.*, 2012). Pareil à nos résultats de l'amélioration des valeurs du bilan rénal chez le groupe (Cd-Cur) comparativement avec le lot (Cd-0), Aggarwal *et al.*, (2007) ont suggéré que l'administration de curcuma entraîne une diminution significative de l'urémie et de la créatinémie. En effet, la curcumine possède un effet protecteur contre la néphrotoxicité grâce à

l'induction des enzymes antioxydantes (Trujillo *et al.*, 2013).

L'influence du traitement sur la fonction pancréatique a été marquée par l'augmentation du taux de glucose et des activités enzymatiques de l' $\alpha$ -amylase et la lipase chez les rats traités par le Cd (Cd-0). Ceci est probablement dus à la toxicité pancréatique causée par le cadmium où il sert d'antagoniste métabolique du zinc (Zn) qui potentialise l'action de l'insuline (Anetor *et al.*, 2016). Sharma et Anu (2017) ont expliqué que les perturbations sont dues au stress oxydatif car les cellules des îlots pancréatiques présentent un faible niveau d'enzymes antioxydantes et la peroxydation lipidique diminue la fluidité membranaire, modifie les propriétés de phase des membranes et diminue la résistance électrique. L'augmentation de l' $\alpha$ -amylase et de la lipase plasmatiques sont les bio-indicateurs de la pancréatite aiguë et il a été rapporté que le pancréas accumule de fortes concentrations de cadmium (Shimada *et al.*, 2000). La lipase est une enzyme pancréatique avec une très faible activité dans les conditions physiologiques. Cette enzyme est considérée comme un paramètre sensible et spécifique dans le diagnostic de la pancréatite (Almášiová *et al.*, 2012). Nos résultats sont en concordance avec ceux d'Almášiová *et al.*, (2012), qui ont montré une augmentation des niveaux de la lipase chez les rats exposés au cadmium. Néanmoins, nous avons constaté une amélioration de tous ces paramètres après supplémentation en curcuma (Cd-Cur) par rapport au groupe (Cd-0). Cela est dû à la curcumine, qui exerce des effets cholérétiques en augmentant l'excrétion biliaire ainsi qu'en augmentant la solubilité biliaire, donc éventuellement prévention et traitement de la lithiase biliaire (Akram *et al.*, 2010).

Pour la fonction hépatique, nos résultats ont montré que l'exposition au cadmium (Cd-0) a entraîné une élévation significative des taux d'enzymes hépatiques (AST, ALT et PAL) par rapport aux témoins (0-0); par correspondance avec les résultats d'Abdelaziz *et al.*, (2012) et Kang *et al.*, (2013). La lactate déshydrogénase (LDH) est une enzyme clé de la voie anaérobie, jouant un rôle important dans la production d'énergie en catalysant l'interconversion du pyruvate en lactate dans le processus de glycolyse. Les variations de LDH reflètent les altérations métaboliques (Saidi *et al.*, 2020). Le résultat de l'augmentation de l'activité de la LDH chez les rats traités au cadmium est cohérent avec celui obtenu par Kang *et al.*, (2013). AST, ALT, LDH et PAL sont les plus des biomarqueurs sensibles qui sont directement impliqués dans l'étendue de la toxicité et des dommages cellulaires car ils sont cytoplasmiques et libérés immédiatement dans la circulation après une lésion cellulaire (Aouacheri et Saka, 2020). Nos résultats ont dévoilé une augmentation de la concentration de bilirubine dans le groupe de rats traités avec Cd. De leur côté, Abdelaziz *et al.*, (2012) ont signalé l'augmentation du taux de bilirubine chez les lapins traités au cadmium. Plusieurs études comme celles de Shahat *et al.*, (2018), ont observé un taux élevé de cholestérol et de triglycérides après une exposition au cadmium. Cette équipe de

recherche a montré que la toxicité du cadmium entraîne une variété de dérèglements dans les processus métaboliques et régulateurs des lipides, qui à leur tour conduisent à la dyslipidémie, la complication métabolique la plus courante observée dans la toxicité des métaux lourds. Cependant, selon Hewlings et Kalman (2017), l'augmentation des niveaux des triglycérides (TG) observée dans le foie des rats traités au Cd a été attribuée à une importante synthèse de TG, qui est due à la diminution de l'activité de la lipoprotéine lipase (LPL), une enzyme clé dans l'hydrolyse des TG. L'amélioration des perturbations hépatiques après supplémentation par le curcuma (Cd-Cur) et comparativement au groupe (Cd-0), est probablement attribuée au curcuma qui est connu pour ses caractéristiques antioxydantes et plusieurs chercheurs ont confirmé ses propriétés hépatoprotectrices (Saidi *et al.*, 2020).

Le corps renferme un complexe de défense antioxydant qui repose sur des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques endogènes. Ces molécules agissent collectivement contre les radicaux libres pour résister à leurs effets néfastes sur les biomolécules vitales et sur les tissus corporels (Ighodaroab et Akinloyeb, 2018). Nos résultats montrent des perturbations significatives des paramètres mesurant le stress oxydatif après traitement au Cd chez le groupe (Cd-0) par rapport au groupe témoins (0-0). Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont souvent impliquées dans la toxicité du Cd. Le cadmium a été impliqué comme ayant une forte affinité pour les groupes sulfhydryle (-SH) de diverses enzymes, des antioxydants soufrés tels que la N-acétyl-L-cystéine (NAC), l'acide alpha-lipoïque (ALA), le glutathion (GSH), les rendant inactifs et sensibles au stress oxydatif et aux dommages de la membrane cellulaire (Shome *et al.*, 2016). Il a été suggéré que les mécanismes de la toxicité aiguë du cadmium impliquent la déplétion du glutathion et des groupes sulfhydryles liés aux protéines, entraînant une forte production des ERO comme l'ion superoxide, le peroxyde d'hydrogène et radicaux hydroxyle. Le cadmium a augmenté la production des ERO qui déclenchent la peroxydation lipidique et les lésions de l'ADN (Liu *et al.*, 2009). Dans notre étude, après avoir traité des rats avec du cadmium, les niveaux de glutathion ont diminué dans tous les tissus étudiés. Cela peut être dû à la consommation de glutathion car la majorité des métaux sont fortement liés aux groupes -SH des cystéine, faisant de la cystéine libre un chélateur efficace d'ions métalliques (Jozefczak *et al.*, 2012). D'autres études ont également montré un niveau réduit de GSH hépatique chez les rats traités par le Cd en raison de son oxydation en GSSG (glutathion oxydé) (Kim, 2012). Le GSH exerce son rôle dans la synergie avec des enzymes antioxydantes telles que la GST, la GPx, la SOD et la catalase. Cette dernière enzyme (CAT) convertit le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en oxygène et en eau, protégeant ainsi les cellules contre les dommages oxydatifs (Saka *et al.*, 2002; Sharma et Ahuja, 2019). Cette fonction est partagée avec GPx et nécessite du GSH et du sélénium pour fonctionner correctement (Valko *et al.*, 2007). L'évaluation biochimique de ces

systèmes enzymatiques antioxydants a montré que les activités GPx et CAT étaient significativement réduites dans le foie et les reins des rats traités au cadmium, tandis que l'activité GST était significativement augmentée. La forte activité de la GST chez les rats traités au cadmium explique l'implication de cette enzyme dans les réactions de conjugaison des composés électrophiles issus de l'effet du cadmium avec le GSH. Ces réactions de conjugaison sont dues à la production d'acides mercapturiques non toxiques excrétés dans les urines (Saka et Aouacheri, 2017; Aouacheri et Saka, 2020). Il a été démontré que le cadmium diminue les activités des biomarqueurs antioxydants tels que GPx et CAT chez les rats ayant reçu du chlorure de cadmium (5 mg/kg PC) pendant 28 jours (Kehili *et al.*, 2017). Le Cd peut inhiber l'activité des enzymes antioxydantes telles que Cu/Zn SOD et CAT probablement par interaction directe Cd/enzyme, ce qui diminue les défenses antioxydantes intracellulaires. Il a également été démontré que le Cd remplace le fer et le cuivre dans les métalloprotéines (Zwolak, 2019). La réduction marquée de l'activité CAT pourrait résulter d'une carence en métal (fer). Le cadmium peut interagir avec les cations divalents, tels que le fer, et induire une carence en fer. Le fer est le composant structurel du site actif de CAT ; ainsi la carence en fer pourrait être responsable de la réduction de l'activité CAT. La GPx étant une enzyme contenant du sélénium, la déplétion en sélénium (par le cadmium) peut réduire l'activité de la GPx (Momeni et Eskandari, 2019). Le MDA est le produit de dégradation des aldéhydes le plus abondant de la dégradation oxydative des acides gras polyinsaturés (AGPI). Ces AGPI sont fréquemment utilisés comme indicateur de l'étendue de la peroxydation des lipides (Domijan *et al.*, 2014). Le MDA peut réagir avec les protéines et l'ADN, il est considéré comme toxique et mutagène (Nair *et al.*, 2007). Sur la base de notre étude, nous avons observé une augmentation significative des taux de MDA dans le foie et les reins. Après le traitement par le cadmium. Ceci est similaire à d'autres études qui ont trouvé une augmentation dose-dépendante des niveaux de MDA dans les tissus hépatiques (Kara *et al.*, 2005). Le traitement des rats avec du cadmium associé au curcuma a montré une amélioration significative où les niveaux de GSH reviennent à des niveaux proches de la normale au niveau du groupe (Cd-Cur) tout en comparant avec le lot (Cd-0). En effet, le curcuma augmente la disponibilité du GSH et protège la cellule contre les dommages oxydatifs induits lors de la déplétion du GSH. En complément, il améliore à la fois les niveaux de GSH cellulaire et la capacité de piégeage des ERO (Saidi *et al.*, 2020). Il apparaît également que la curcumine exerce une action antioxydante protectrice en renforçant les principales activités enzymatiques (Damiano *et al.*, 2020). La formation des ERO induite par le Cd a été significativement supprimée par la curcumine ; cela indique l'association de l'activité cytoprotectrice et antiradicalaire de la curcumine (Somparn *et al.*, 2015). Par conséquent, la curcumine a le potentiel de piéger les ERO tels que les radicaux superoxydes, les radicaux hydroxyles et les

radicaux alcoxy. La curcumine agit comme un mimétique de la superoxyde dismutase tout en piégeant les radicaux superoxydes et entraîne la dégradation complète du superoxyde (Shome *et al.*, 2016).

Ces résultats ont été confirmés par les résultats des études histologiques. La dose de Cd utilisée a affecté l'histologie des tissus hépatiques et rénaux. Plusieurs études ont rapporté l'association du cadmium à ces changements comme celle de Berrouche *et al.*, (2014). Comme il a été rapporté précédemment, environ la moitié du cadmium absorbé par les intestins est localisée dans le foie et les reins. Dans le foie, le Cd induit la synthèse de la méthallothionéine (MT), formant ainsi le complexe Cd-MT. La saturation de la méthallothionéine conduit à des excès du cadmium dans le foie et cela conduit aux lésions membranaires des hépatocytes (Nzengue *et al.*, 2012). Concernant le tissu histologique rénal, nos données ont été étayées par d'autres comme Gabr *et al.*, (2019), qui ont rapporté que la toxicité du cadmium induisait une nécrose tubulaire ou une perte de la bordure brush et des dommages dans les petits tubules du rein. Dans notre étude, nous avons démontré que l'association du curcuma au cadmium (Cd-Cur) conduit à une réduction de l'inflammation dans et les tissus hépatiques en raison de l'effet anti-inflammatoire du curcuma. Elle a été confirmée par plusieurs investigations, comme celle de Soliman *et al.*, (2014), qui ont confirmé la capacité du curcuma à réduire le nombre de radicaux libres et à exercer son activité anti-inflammatoire lors de toxicité hépatique. De plus, de nombreuses études ont démontré l'effet phytoprotecteur du curcuma sur les lésions rénales, comme Song *et al.*, (2015), qui ont rapporté que l'effet thérapeutique du curcuma améliore les lésions rénales en régulant considérablement l'inflammation et l'apoptose.



*Conclusion et  
perspectives*

### Conclusion et perspectives

Nous avons entrepris la présente étude pour évaluer l'efficacité du curcuma contre la toxicité induite par le Cd chez le rat. Aux regards de nos résultats trouvés, l'intoxication au cadmium a entraîné de graves effets toxiques dans le sang et les organes des rats *Albinos wistar*, comme en témoignent les perturbations au niveau des marqueurs oxydatifs, hématologiques, hépatiques, lipidiques, rénaux, pancréatiques et histopathologiques. La supplémentation en curcuma a montré des résultats satisfaisants et encourageants; il a contrecarré efficacement cette toxicité grâce à l'action de la curcumine, qui possède des propriétés antioxydantes putatives et de piégeage des radicaux libres. Le stress oxydatif est un mécanisme majeur de toxicité et a été impliqué comme un facteur significatif dans notre étude. Ainsi, davantage d'antioxydants naturels devraient être inclus dans l'alimentation quotidienne pour lutter contre les effets délétères des métaux lourds. Nos résultats sont récapitulés comme suit :

✚ L'étude physiologique montre que la croissance des rats n'a pas été influencée par le traitement. Cependant, une augmentation des indices hépato, réno, spléno et cardio- somatiques chez les rats traités par le cadmium a été enregistrée. L'association du Curcuma a amélioré ces changements.

✚ Le traitement par le chlorure de cadmium a induit une hématoxicité, observée par une diminution significative des paramètres hématologiques (GR, GB, HGB, HCT, PLT, LY).L'addition du curcuma a amélioré les changements hématologiques, en témoignant l'effet protecteur de cet ingrédient alimentaire.

✚ Une perturbation du métabolisme biochimique après le traitement par le cadmium a été révélée par l'augmentation des taux sériques en : urée, créatinine, acide urique, protéines totales, glycémie, activité enzymatique de l' $\alpha$ - amylase et la lipase, ainsi que l'augmentation de l'activité enzymatique des : ASAT, ALAT, LDH et PAL et aussi la bilirubine totale et directe.Les perturbations ont été observé aussi aux niveaux des taux du cholestérol totale et les triglycérides plasmatiques. La supplémentation du curcuma a considérablement réduit cette perturbation, ceci montre son effet protecteur.

✚ Les rats soumis au cadmium développent une augmentation du taux tissulaire de MDA et de la GSH-ST, diminution de l'activité enzymatique de la GSH-Px et la CAT et du taux de glutathion. Ces paramètres ont été équilibrés par la supplémentation du curcuma.

## Conclusion et Perspective

---

✚ Les coupes histologiques réalisées sur des fragments de foie et de rein, permettent de confirmer l'effet cytoprotecteur du curcuma par la restitution des hépatocytes, la régénération des glomérules et des tubules rénaux.

Tous ces résultats ont permis de mettre en évidence l'action protectrice du curcuma et sa capacité à moduler les effets toxiques causés par le cadmium. Il serait judicieux de compléter cette recherche scientifiques par :

- ✓ Le dosage de biomarqueurs de stress oxydant plus performants et reflétant bien l'état de stress oxydant cellulaire comme par exemple le rapport GSH/GSSG, le taux des radicaux libres, le taux des vitamines C et E, 8-OH-2'-deoxyguanosine (8-OH2DG)...etc.
- ✓ La détermination du taux de cadmium dans le sang, les urines et les organes cibles.
- ✓ L'étude phytochimique du curcuma pour déterminer les composés actifs responsables des effets protecteurs du curcuma.
- ✓ Dosage des hormones stéroïdienne
- ✓ Dosage de la LPL
- ✓ Coupes au microscope électronique

# Conclusion et Perspectives

---



# Références bibliographiques

## Références bibliographiques

- Abam E., Okediran B.S., Odukoya O.O., Adamson I., Ademuyiwa O.** (2008). Reversal of ionoregulatory disruptions in occupational lead exposure by vitamin C. *Environ Toxicol Pharmacol.* 26(3): 297-304. Doi: 10.1016/j.etap.2008.05.008.
- Abd Allah E.F., Hashem A., Alqarawi A.A., Alwathnani H.A.** (2015). Alleviation of adverse impact of cadmium stress in sunflower (*Helianthus annuus L.*) by arbuscular mycorrhizal fungi. *Pak J Bot.* 47(2): 785-795.
- Abdelaziz I., Elhabiby M., Ashour A.** (2012). Toxicity of cadmium and protective effect of bee honey, vitamins C and B complex. *Human Exp Toxicol.* 32(4): 362-370.
- Abdel-Shafy S., Alanazi A.D., Gabr H.S.M., Allam A.M., Abou-Zeina H.A.A., Masoud R.A., Soliman D.E, Alshahrani M.Y.** (2020). Efficacy and safety of ethanolic *Curcuma longa* extract as a treatment for sand tampan ticks in a rabbit model. *Vet World.* 13(4): 812-820.
- Abdel-Wahhab M.A., Aly S.E.** (2005). Antioxidant property of *Nigella sativa* (black cumin) and *Syzygium aromaticum* (glove) in rats during aflatoxicosis. *J Appl Toxicol.* 25: 218-223. Doi: 10.1002/jat.1057.
- Abilés J., Moreno-Torres R., Moratalla G., Castaño J., Abúd R.P., Mudarra A., Machado M.J., Planells E., Pérez de la Cruz A.** (2008). Efectos de la suplementación con glutamina sobre el sistema antioxidante y la peroxidación lipídica en pacientes críticos con nutrición parenteral. *Nutr Hosp.* 23(4): 332-339.
- Abou-Elkhair R., Ahmed A.H., Selim S.** (2014). Effects of black pepper (*piper nigrum*), turmeric powder (*curcuma longa*) and coriander seeds (*coriandrum sativum*) and their combinations as feed additives on growth performance, carcass traits, some blood parameters and humoral immune response of broiler chickens. *Asian-Australas J Anim Sci.* 27(6): 847-54. doi: 10.5713/ajas.2013.13644.27.
- Abrahams P.W.** (2002). Soils: their implications to human health. *Sci Total Environ.* 291(1-3): 1-33. Doi: 10.1016/s0048-9697(01)01102-0.
- Abuja P.M., Albertini R.** (2001). Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta.* 306: 1-17.
- Ashok Kumar P, Bangaraiah P.** (2001). Extraction of curcumin from Turmeric Roots. *International Journal of Innovative Research and Studies. Food and Agriculture Organization.* 290-2580
- Adriano D.C.** (2001). Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability and risks of metals. 2<sup>nd</sup> Edition, Springer-Verlag, New York.

## Références bibliographiques

- Aebi H.** (1984). Catalase in vitro. *Meth Enzymol.* 105: 121-126. Doi: 10.1016/s0076-6879(84)05016-3.
- Agarwal R., Goel S.K., Behari J.R.** (2010). Detoxification and antioxidant effects of curcumin in rats experimentally exposed to mercury. *J App Toxicol.* 30(5): 457-68.
- Aggarwal B.B., Kumar A., Aggarwal M.S., Shishodia S.** (2005). Curcumin derived from turmeric (*Curcuma longa*): a spice for all seasons. (349-387). In: Bagchi D., Preuss H.G., Eds., *Phytopharmaceuticals in cancer chemoprevention*. CRC Press, Boca Raton.
- Aggarwal B.B., Kunnumakkara A.B.** (2009). *Molecular targets and therapeutic uses of spices, modern uses for ancient medicine*. Singapore, World Scientific Publishing.
- Aggarwal B.B., Surh Y.J., Shishodia S.** (2007). *The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease*. Springer, New York.
- Agrawal A., Sharma B.** (2010). Pesticides induced oxidative stress in mammalian system. *Int J Biol Med Res.* 1(3): 90-104.
- Akinyemi A.J., Adeniyi P.A.** (2018). Effect of essential oils from ginger (*Zingiber officinale*) and turmeric (*Curcuma longa*) rhizomes on some inflammatory biomarkers in cadmium induced neurotoxicity in rats. *J Toxicol.* 2018: 1-7. doi: 10.1155/2018/4109491.
- Akram M., Shahab-Uddin., Ahmed A., Usmanghani K., Abdul H., Mohiuddin E., Asif M.** (2010). *Curcuma longa* and curcumin: A review article. *Rom J Biol - Plant Biol.* 55(2): 65-70.
- Al Ghouleh I., Khoo N.K., Knaus U.G., Griendling K.K., Touyz R.M., Thannickal V.J., Barchowsky A., Nausee W.M., Kelley E.E., Bauer P.M., Darley-Usmar V., Shiva S., Cifuentes-Pagano E., Freeman B.A., Gladwin M.T., Pagano P.J.** (2011). Oxidases and peroxidases in cardiovascular and lung disease: new concepts in reactive oxygen species signaling. *Free Radic Biol Med.* 51(7): 1271-1288.
- Al-Ishaq R.K., Abotaleb M., Kubatka P., Kajo K., Busselberg D.** (2019). Flavonoids and their anti diabetic effects: Cellular mechanisms and effects to improve blood sugar levels. *Biomolecules.* 9(9): 430.
- Almášiová V., Lukačínová A., Holovská K., Cigánková V., Ništiar F.** (2012). Effect of lifetime low dose exposure to cadmium on lipid metabolism of wistar rats. *J Microbiol Biotech Food Sci.* 2(1): 293-303.
- Amiot M.J., Riollet C., Landrier J.F.** (2009). Polyphénols et syndrome métabolique: Polyphenols and metabolic syndrome. *Med Mal Metab.* 3(5): 476- 482.
- Anetor J.I., Uche C.Z., Ayita E.B., Adedapo S.K., Adeleye J.O., Anetor G.O., Akinlade S.K.** (2016). Cadmium level, glycemic control, and indices of renal function in treated type II diabetics: implications for polluted environments. *Front Public Health.* 4: 1-6.

## Références bibliographiques

- Anil K., Jyotsna D., Anup S.** (2011). A review on spice of life curcuma longa (turmeric). *Int J Appl Biol Pharm Tech.* 2(4): 371-379.
- Aouacheri O, Saka S.** (2020). Cytoprotective effects of *Zingiber officinale* against the oxidative stress induced by lead acetate toxicity in rats. *Phytothérapie.* 1: 1-9.
- Attia A.M.M., Ibrahim F.M.M., Abd El-Latif N.A., Aziz S.W.** (2014). Antioxidant effects of curcumin against cadmium chloride-induced oxidative stress in the blood of rats. *J Pharmacol Phytoth.* 6(3): 33-40.
- Bartik L.; Whitfield G.K.; Kaczmarek M., Lowmiller C.L., Moffet W., Furmick J.K., Hernandez Z., Haussler C. A., Mark R., Jurutka P.W.** (2011). Curcumin: A novel nutritionally derived ligand of the vitamin D receptor with implications for colon cancer chemoprevention. *J Nutr Biochem.* 21(12): 1153-1161.
- Bennetau-Pelissero C.** (2014). Polyphénols et voies de signalisation, données récentes. *Cah Nutr Diet.* doi: 10.1016/j.cnd.2014.02.004.
- Berroukche A., Abderrahmene L., Terras M.** (2015). Antagonist effects of cadmium and zinc on the histological structures of the lungs, liver and kidneys in the wistar rats. *Environ Risques Santé.* 14(2): 163-171.
- Birk J., Meyer M., Aller I., Hansen H.G., Odermatt A., Dick T.P., Appenzeller-Herzog C.** (2013). Endoplasmic reticulum: reduced and oxidized glutathione revisited. *J Cell Sci.* 126(7): 1604-1617.
- Bismuth C.** (2000). *Toxicologie clinique., Médecine-Sciences Flammarion Paris.* 5e éd France. 106-107.
- Bradl H.B.** (2005). Sources and origins of heavy metals. *Interface Sci Technol.* 1(6): 1-27.
- Branca J.J.V., Fiorillo C., Carrino D., Paternostro F., Taddei N., Gulisano M., Pacini A., Becatti M.** (2020). Cadmium-induced oxidative stress: focus on the central nervous system. *Antioxidants.* 9(6): 492.
- Braunwald E., Fauci A.S., Kasper D.L., Hauser S.L., Longo D.L., Jameson J.L.** (2001). *Harrison's principles of internal medicine.* 15th Edition. McGraw-Hill, New York.
- Camarena V., Wang G.** (2016). The epigenetic role of vitamin C in health and disease. *Cell Mol Life Sci.* 73(8): 1645-1658.
- Carrière V, Chambaz J, Rouss M.**(2001). Intestinal responses to xenobiotics .Session4 .Xenobiotics and Gene Expression.Toxicology in Vitro.373-378.
- Gracia K.C., Llanas-Cornejo D., Husi H.** (2017). CVD and oxidative stress. *J Clin Med.* 6(2): 1-22. Doi: 10.3390/jcm6020022.
- Chauhan U.K, Soni P, Shrivastava R, Mathur K.C, Khadikar P.V.** (2003). Antimicrobial activities of the rhizome of *Curcuma longa Linn.* *Oxidation Commun,* 26(2): 266-70.
- Chaturvedi T.P.** (2009). Uses of turmeric in dentistry: An update. *Indian J Dent Res.* 20(1):

107-109.

- Chen X., Zou L.Q., Niu J., Liu W., Peng S.F., Liu C.M.** (2015). The stability, sustained release and cellular antioxidant activity of curcumin nanoliposomes. *Molecules*. 20 (8): 14293-14311.
- Cheng H., Liu Y., Tam N.F.Y., Wang X., Li, S.Y., Chen G.Z., Ye Z.H.** (2010). The role of radial oxygen loss and root anatomy on zinc uptake and tolerance in mangrove seedlings. *Environ Pollut*. 158(5): 1189-1196.
- Ching W-Y., Bin-Yusoff Y., Wan-Amarina W-N. B.** (2014). Extraction of essential oil from *Curcuma longa*. *J Food Chem Nutr*. 02(01): 01-10.
- Damiano S., Andretta E., Longobardi C., Prisco F., Paciello O., Squillacioti C., Mirabella N., Florio S., Ciarcia R.** (2020). Effects of curcumin on the renal toxicity induced by ochratoxin a in rats. *Antioxidants*. 9(4): 332.
- Das N. G., Dhiman S., Talukdar P. K., Rabha B., Goswami D., Veer V.** (2015). Synergistic 118 mosquito-repellent activity of curcuma longa, pogostemon heyneanus and zanthoxylum limonella essential oils. *J Inf Public Health*. 8 (4): 323-328.
- Domijan A.M., Ralić J., Radić Brkanac S., Rumora L., Žanić-Grubišić T.** (2014). Quantification of malondialdehyde by HPLC-FL - application to various biological samples. *Biomed Chromat*. 29(1): 41-46.
- Edwards R.L., Luis P.B., Varuzza P.V., Joseph A.I., Presley S.H.** (2017). The anti-inflammatory activity of curcumin is mediated by its oxidative metabolites. *J Biol Chem*. 292(52): 21243-52.
- Emiroglu G, Coskun Z.O, Kalkan Y, Erdivanli O.C, Tumkaya L, et al.** (2017). The effects of curcumin on wound healing in a rat model of nasal mucosal trauma. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2017: 9452392.
- Elshama S., Abdalla M.E., Mohamed A.M.** (2018). Role of natural antioxidants in treatment of toxicity. *J Toxicol Anal*. 1(1): 3.
- Engwa G. A.** (2018). Free Radicals and the role of plant phytochemicals as antioxidants against oxidative stress-related diseases. *Phytochemicals: Source of antioxidants and role in disease prevention*. 4: 49-73. Doi: 10.5772/intechopen.76719.
- Ernie H.** (2006). Putting a Load on Your Bones: Low-level cadmium exposure and osteoporosis. *Environ Health Perspect*. 114(6): 369-370.
- Esatbeyoglu T., Huebbe P., Ernst I. M.A., Chin D., Wagner A. E., Rimbach G.** (2012). Curcumin from Molecule to Biological Function. *Angewandte Chem Inter Ed*. 51 (22): 5308-5332.
- Eybl V, Kotyzová D, Bludovská M.** (2004). The effect of curcumin on cadmium-induced oxidative damage and trace elements level in the liver of rats and mice. *Toxicol. Lett*. 151: 79-85

## Références bibliographiques

- 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.
- Fiati Kenston S.S., Su H., Li Z., Kong L., Wang Y., Song X., Lin X.** (2018). The systemic toxicity of heavy metal mixtures in rats. *Toxicol Res.* 7(3): 396-407.
- Gabr S.A., Alghadir A.H., Ghoniem G.A.** (2019). Biological activities of ginger against cadmium-induced renal toxicity. *Saudi J Biol Sci.* 26(2): 382-389.
- Ganther H.E.** (2014). Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxin reductase. *Carcinogenesis.* 20(19):1657-66.
- Gaurav D., Preet S., Dua K.K.** (2010). Chronic cadmium toxicity in rats; treatment with combined administration of vitamins, amino acids, antioxidants and essential metals. *J Food Drug Analysis.* 18(16): 464-470.
- Genchi G., Sinicropi M.S., Lauria G., Carocci A., and Catalano A.** (2022). The effects of cadmium toxicity. *Int J Environ Res Public Health.* 17: 3782. doi: 10.3390/ijerph17113782.
- Goyer A.G, Clarkson T.W.** (2001). *Toxic effects of metals. Casarett and Doull's toxicology, the basic sciences of poisons.* fifth Edition. C.D Klaassen, McGraw-Hill. Montréal
- Gordon O.N., Luis P.B., Sintim H.O., Schneider C.** (2015). Unraveling curcumin degradation. *J Biol Chem.* 290(8): 4817–4828.
- Gredilla R.** (2011). DNA damage and base excision repair in mitochondria and their role in aging. *J Aging Res.* 2011: 1-9. doi:10.4061/2011/257093.
- Gülcin I.** (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Arch Toxicol.* 86(3): 345-391.
- Hansen B.H., Romma S., Garmo O.A., Pedersen S.A., Olsvik P.A., Andersen R.A.** (2007). Induction and activity of oxidative stress-related proteins during waterborne Cd/Zn-exposure in brown trout (*Salmo trutta*). *Chemosphere.* 67: 2241-2249.
- Hanson M.L., Holaskova I.M., Elliott M.** (2012). Prenatal cadmium exposure alters postnatal cell development and function. *Toxicol Appl Pharmacol.* 261(2): 196–203.
- Harrison E.H., Curely R.W.** (2016). Carotenoids and retinoids: nomenclature, chemistry, and analysis. *Subcell Biochem.* 81: 1-19.
- Heger M., Van Golen R.F., Broekgaarden M., Michel M.C.** (2014). The molecular basis for the pharmacokinetics and pharmacodynamics of curcumin and its metabolites in relation to cancer. *Pharmacol Rev.* 66 (1): 222–307.
- Hewlings S.J., Kalman D.S.** (2017). Curcumin. A Review of its' effects on human health. *Foods.* 6(10): 92.
- Hoppe J.** (2001). Curcuma: Turmeric. *Medical Herbalism.* 11(4):1,3-5

## Références bibliographiques

- Hounkpatin A.S.Y., Edorh P.A., Gue'de'non P., Alimba C.G., Ogunkanmi A., Dougnon T.V., Boni G., Aissi K.A., Montcho S., Loko F., Ouazzani N., Mandi L., Boko M., Creppy E.E.** (2013). Haematological evaluation of Wistar rats exposed to chronic doses of cadmium, mercury and combined cadmium and mercury. *Afr J Biotechnol.* 12(23): 3731–3737.
- Ichai C., Quintard H., Orban J.C.** (2011). *Désordres métaboliques et réanimation: de la physiopathologie au traitement.* Edition Springer, Paris.
- Ighodaroab O.M., Akinloyeb O.A.** (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria J Med.* 54(4): 287-293.
- Ikram N., Khalid H., Samina T.** (2004). Review article cytokines. *Int J Pathol.* 1: 47-58.
- I'yasova D., Schwartz G.G.** (2005). Cadmium and renal cancer. *Toxicol Appl Pharmacol.* 207: 179-186.
- Irving G.R.B., Howells L. M., Sale S., Kralj-hans I., Atkin W.S., Clark S.K., Britton R.G., Jones D.J.L., Scott E.N., Berry D.P., Hemingway D., Miller A.S., Brown K., Gescher A.J., Steward W.P.** (2013). Prolonged biologically active colonic tissue levels of curcumin achieved after oral administration — a clinical pilot study including assessment of patient acceptability. *Cancer Prev Res.* 6 (2): 119-129.
- Joshi Y.B., Praticò D.** (2012). Vitamin E in aging, dementia, and Alzheimer's disease. *Biofactors.* 38(2): 90-97.
- Jozefczak M., Remans T., Vangronsveld J., Cuypers A.** (2012). Glutathione is a key player in metal-induced oxidative stress defenses. *Int J Mol Sci.* 13: 3145-3175.
- Jumarie C., Fortin C., Houde M., Campbell P., Denizeau F.** (2001). Cadmium uptake by Caco-2 cells: Effects of Cd complexation by chloride, glutathione and phytochelatins. *Toxicol Appl Pharmacol.* 170: 29-38.
- Kalahasthi R.B., Rajmohan. H., Rao R., Bagalur R.K.M., Kumar M.K.** (2006). Effect of cadmium exposure on serum amylase activity in cadmium electroplating workers. *Environ Bioindicators.* 1(4): 118-119.
- Kang M.Y., Cho S.H., Lim Y.H., Seo J.C., Hong Y.C.** (2013). Effects of environmental cadmium exposure on liver function in adults. *Occup Environ Med.* 70(4): 268-273.
- Kara H., Karatas F., Canatan H., Servi K.** (2005). Effects of exogenous metallothionein on acute cadmium toxicity in rats. *Biol Trace Element Res.* 104(3): 223-232.
- Karewicz A., Bielska D., Gzyl-malcher B., Kepczynski M., Lach R., Nowakowska M.** (2011). Colloids and surfaces B: biointerfaces interaction of curcumin with lipid monolayers and liposomal bilayers. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 88 (1): 231–239.

## Références bibliographiques

- Kehili N., Saka S., Aouacheri O.** (2017). The phytoprotective effect of nigella (*Nigella sativa*) against the toxicity induced by cadmium in rats. *Phytothérapie*. 1, 1-10. doi: 10.1007/s10298-017-1099-y.
- Kim K.** (2012). Blood cadmium concentration and lipid profile in Korean adults. *Environ Res*. 112: 225-229.
- Kim S.H., Hong K.O., Hwang J.K., Park K.K.** (2005). Xanthorrhizol has a potential to attenuate the high dose cisplatin-induced nephrotoxicity in mice. *Food Chem Toxicol*. 43(1): 117-122.
- Kotha R.R., Luthria D.L.** (2019). Curcumin: biological, pharmaceutical, nutraceutical, and analytical aspects. *Molecules*. 24(16): 2930. Doi: 10.3390/molecules24162930.
- Kukongviriyapan U., Apaijit K., Kukongviriyapan V.** (2016). Oxidative stress and cardiovascular dysfunction associated with cadmium exposure: beneficial effects of curcumin and tetrahydro curcumin. *Tohoku J Exp Med*. 239(1): 25-38.
- Kumar A., Pandey R., Siddiqi N.J., Sharma B.** (2019). Oxidative stress biomarkers of cadmium toxicity in mammalian systems and their distinct ameliorative strategy. *Journal of Applied Biotechnology and Bioengineering*. 6(3): 126-135. Doi: 10.15406/jabb.2019.09.00184.
- Kumar S., Sharma A.** (2019). Cadmium toxicity: Effects on human reproduction and fertility. *Rev Environ Health*. 34: 327-338.
- Kumaş M., Eşrefoğlu M., Bayindir N., Iraz M., Ayhan S., Meydan S.** (2016). Protective effects of curcumin on cadmium-induced renal injury in young and aged rats. *Bezmiâlem Science* 3: 92-98. Doi: 10.14235/bs.2016.788.
- Kurutas E.B.** (2015). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Kurutas Nutr J*. 15(1): 71.
- Li J., Dai C., Sun H., Jin L., Guo C., Cao W., Wu J., Tian H., Luo C., Ye W., Jiang R.** (2012). Protective effects and mechanisms of curcumin on podophyllotoxin toxicity in vitro and in vivo. *Toxicol Appl Pharmacol*. 265(2): 190–199.
- Liju V. B., Jeena K., Kuttan R.** (2013). Acute and subchronic toxicity as well as mutagenic evaluation of essential oil from turmeric (*Curcuma longa* L). *Food Chem Toxicol*. 53: 52–61.
- Lima J.E., Xavier D.J., Sakamoto-Hojo E.T.** (2019). Oxidative stress, DNA damage and repair pathways in patients with type 2 diabetes mellitus. *Intech Open*.
- Liu H., Xu H., Huang K.** (2017). Selenium in the prevention of atherosclerosis and its underlying mechanisms. *Metallomics*. 9: 21-37.
- Liu J., Qu W., Kadiiska M.B.** (2009) Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis. *Toxicol Appl pharmacol*. 238(3): 209-214.

## Références bibliographiques

- López-Herranz A., Cutanda F., Esteban M., Pollán M., Calvo E., Pérez-Gómez B.** (2016). Cadmium levels in a representative sample of the Spanish adult population: The Bioambient.ES project. *J Exp Sci Environ Epidemiol.* 26(5): 471-480. doi: 10.1038/jes.2015.25.
- Lu J., Li A., Huang P.** (2017). Distribution, sources and contamination assessment of heavy metals in surface sediments of the South Yellow Sea and northern part of the East China Sea. *Mar Pollut Bull.* 124(1): 470-479.
- Lund M.N., Heinonen M., Baron C.P., Estévez M.** (2011). Protein oxidation in muscle foods: A review. *Mol Nutr Food Res.* 55(1): 83-95.
- Messaadia A., Saka S., Krim M., Maldi I., Aouacheri O., Djafer R.** (2013). Ginger-supplemented diet ameliorates ammonium nitrate-induced oxidative stress in rats. *Afr j Biotechnol.* 12(40): 5909-5916.
- Momeni H., Eskandari N.** (2019). Curcumin protects the testis against cadmium-induced histopathological damages and oxidative stress in mice. *Hum Exp Toxicol.* 39(5): 653-661. doi: 10.1177/0960327119895564.
- Morin S, Vivas-Nogues M, Thi TD, Boudou A, Coste M, Delmas F.** (2007). Dynamics of benthic diatom colonization in a cadmium/zinc-polluted river (Riou-Mort, France). *Fundam Appl Limnol.* 168: 179-187.
- Mukherjee A., Das D., Mondal S.K., Biswas R., Das T.K., Boujedaini N., Anisur R., Bukhsh K.** (2010). Tolerance of arsenate-induced stress in *Aspergillus niger*, a possible candidate for bioremediation. *Ecotoxicol Environ Safety.* 73: 172-182.
- Murray., Bender. ,Bothan., Kennlly., Rodwell., wiel.** (2013). *Biochimie de Harper.* 5<sup>ème</sup> édition. De Boech supérieure s.a, Paris.
- Nagahama K., Sano Y., Kumano T.** (2015). Anticancer drug-based multifunctional nanogels through self-assembly of dextran–curcumin conjugates toward cancer theranostics. *Bioorg Med Chem Lett.* 25(12): 2519–2522.
- Naik S.R., Thakare V.N., Patil S.R.** (2011). Protective effect of curcumin on experimentally induced inflammation, hepatotoxicity and cardiotoxicity in rats: evidence of its antioxidant property. *Exp Toxicol Pathol.* 63(5): 419-431.
- Nair U., Bartsch H., Nair J.** (2007). Lipid peroxidation-induced DNA damage in cancer-prone inflammatory diseases: a review of published adduct types and levels in humans. *Free Rad Biol Med.* 43: 1109-1120.
- Nordberg G.F., Nogawa K., Nordberg M., Friberg L.T.** (2007). Cadmium. (445-480). In: Nordberg G.F., Fowler B.A., Nordberg M., Friberg L. (Eds). *Handbook of Toxicology of Metals.* 3<sup>ème</sup> édition. Elsevier Publishers, Amsterdam.
- Nzengue Y., Steiman R., Rachidi W., Favier A., Guiraud P.** (2012). Oxidative stress induced

## Références bibliographiques

by cadmium in the C6 cell line. *Biol Trace Element Res.* 146(3): 410-409.

- Oberdorster G, Oberdorster E, Oberdorster J.** (2005). Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect.* 113: 823-839.
- Ozcan T., Akpinar-Bayazit A., Yilmaz-Ersan L., Delikanli B.** (2014). Phenolics in human health. *Int J Chem Eng Appl.* 5(5): 393-396. Doi: 10.7763/IJCEA.2014.V5.416.
- Pajuelo E., Rodriguez-Llorente I.D., Lafuente A., Caviedes M.A.** (2011). Legume–Rhizobium symbioses as a tool for bioremediation of heavy metal polluted soils. (95-123). In: Khan MS, Zaidi A, Goel R, Musarrat J. (Eds). *Biomangement of metal-contaminated soils.* Environmental Pollution. Springer, Netherlands.
- Péret-Almeida L, Cherubino P.F, Alves R.J, Dufossé L, Glória M.B.** (2005). Separation and Determination of the Physico-Chemical Characteristics of Curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumi. *Food Research International.* 38 (8-9) : 1039–1044.
- Phaniendra A., Jestadi D. B., Periyasamy L.** (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Ind J Clin Biochem.* 30(1): 11-26.
- Pichard A.** (2000). Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques : cadmium et ses dérivés. INERIS-DRC-0125590. ETSCAPI/SD. 40.
- Picot A.** (2006). L'Antimoine, un vieux toxique toujours méconnu. *J Environmental Monitoring France.* 2:1-12.
- Pizzino G., Irrera N., Cucinotta M., Pallio G., Mannino F., Arcoraci V., Bitto A.** (2017). Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxid Med Cell Longev.* 2017: 1-13. doi: 10.1155/2017/8416763.
- Prasad S., Aggarwal B.B.** (2011). Turmeric, the Golden Spice from Traditional Medicine to Modern Medicine. (1-26). In: Benzie I.F.F., Wachtel-Galor S. (Eds). *Herbal Medicine, Biomolecular and Clinical Aspects,* 2<sup>nd</sup> Edition, CRC Press, Boca Raton. Doi: 10.1201/b10787-14.
- Prabhakaran M., Zamani M., Ramakrishna S.** (2013). Advances in drug delivery via electrospun and electrosprayed nanomaterials . *International Journal of Nanomedicine* .8 : 2997-3017.
- Priyadarsini K.** (2014). The chemistry of curcumin: from extraction to therapeutic agent. *Molecules.* 19(12): 20091–20112.
- Rao P.P.N., Mohamed T., Teckwani K., Tin G.** (2015). Curcumin binding to beta amyloid: a computational study. *Chem Biol Drug Des.* 86(4): 813-820. doi: 10.1111/cbdd.12552.
- Rathore S., Mukim M., Sharma P., Devi S., Nagar J.C., Khalid M.** (2020). Curcumin: A

## Références bibliographiques

Review for health benefits. *Int J Res Rev.* 7(1): 273-290.

**Ravindran P.N., Nirmal Babu K., Sivaraman K.** (2007). *Turmeric: the genus curcuma. Medicinal and aromatic plants - Industrial Profiles.* CRC Press, New York.

**Reeg S., Grune T.** (2015). Protein oxidation in aging: does it play a role in aging progression? *Antioxidants & redox signaling.* 23(3), 239-255

**Reeves P.G., Chaney R.L.** (2004). Marginal nutritional status of zinc, iron, and calcium increases cadmium retention in the duodenum and other organs of rats fed rice-based diets. *Environ Res.* 96: 311-322.

**Roohani N., Hurrell R., Kelishadi R., Schulin R.** (2013). Zinc and its importance for human health: An integrative review. *J Res Med Sci,* 18(2): 144–157

**Saidi M., Aouacheri O., Saka S.** (2020). Protective effect of curcuma against chromium hepatotoxicity in rats. *Phytothérapie.* 18: 148-155.

**Saidi M., Aouacheri O., Saka S., Tebboub I., Ailane L.** (2019). Nephron-protective effects of curcuma on oxidative damage and oxidative stress in rat under sub-chronic poisoning of chromium. *International Journal of Biosciences.* 15(1): 241-250.

**Satarug S, Moore M. R.** (2004). Adverse Health Effects of Chronic Exposure to Low-Level Cadmium in Foodstuffs and Cigarette Smoke. *Environmental Health Perspectives.* 112: 1099-1103

**Saka S., Aouacheri O.** (2017). The investigation of the oxidative stress-related parameters in high doses methotrexate-induced Albino wistar rats. *J Bioequivalence Bioavailab.* 9(2): 372-376.

**Saka S., Aouacheri W., Abdennour C.** (2002). The capacity of glutathione reductase in the cell protection from toxic effect of heated oils. *Biochimie.* 84: 661- 665.

**Shahat M.M.A., Foud M.M.A., Sultan H.A.A., Ali I.O.** (2018). Evaluation of the protective roles of synthetic zeolite on some physiological and biochemical parameters after cadmium toxicity of crayfish (*Procambarus clarkii*). *Egypt J Hosp Med.* 72(11): 5517-5526.

**Shahidi F., Yeo J.** (2018). Bioactivities of phenolics by focusing on suppression of chronic diseases: A review. *Int J Mol Sci.* 19(6), 1573

**Sharma S., Ahuja C.** (2019). Ameliorating efficacy of curcumin on cadmium induced thyroid dysfunction in albino rats. *Int J Biol Sci.* 6(1): 187-195.

**Sharma S., Anu.** (2017). Effect of Curcuma longa supplementation on lipid peroxidation, serum amylase, lipase activities in mice exposed to cadmium. *Int J Adv Res.* 5(12): 786-792.

**Shetty D., Kim Y., Shim H., Snyder J.** (2014). Eliminating the heart from the curcumin molecule: monocarbonyl curcumin mimics (MACs). *Molecules.* 20 (1): 249-292.

**Shome S., Talukdar A.D., Choudhury M.D., Bhattacharya M.K., Upadhyaya H.** (2016).

## Références bibliographiques

- Curcumin as potential therapeutic natural product: a nanobiotechnological perspective. *J Pharm Pharmacol.* 68(12): 1481-1500.
- Singhal S.S., Singh S.P., Singhal P., Horne D., Singhal J.** (2015). Antioxidant role of glutathione S-transferases: 4-Hydroxynonenal, a key molecule in stress-mediated signaling. *Toxicol Appl Pharmacol.* 289(3): 361-70.
- Sisein E.A.** (2014). Biochemistry of free radicals and antioxidants. *Sch Acad J Biosci.* 2(2): 110-118.
- Soliman M.M., Nassan M.A., Ismail T.A.** (2014). Immunohistochemical and molecular study on the protective effect of curcumin against hepatic toxicity induced by paracetamol in Wistar rats. *BMC Compl Alter Med.* 14(457): 1-11.
- Somparn N., Kukongviriyapan V., Kukongviriyapan U., Senggunprai L., Prawan A.** (2015). Protective effects of tetrahydrocurcumin and curcumin against doxorubicin and cadmium-induced cytotoxicity in chang liver cells. *Trop J Pharm Res.* 14(5): 769-776.
- Stohs S.J., Chen O., Ray S.D., Ji J., Bucci L.R., Preuss H.G.** (2020). Highly bioavailable forms of curcumin and promising avenues for curcumin-based research and application: A Review. *Molecules.* 25(6): 1397.
- Sulaymon A.H., Sharif A.O., Al-Shalchi T.K.** (2011). Removal of cadmium from simulated wastewaters by electrodeposition on stainless steel tubes bundle electrode, *Desalin. Water Treat.* 29: 218–226.
- Tchounwou P.B., Yedjou C.G., Patlolla A.K., Sutton D.J.** (2012). Heavy metals toxicity and the environment. *Exp Suppl.* 101: 133-64.
- Thevenod F.** (2003). Nephrotoxicity and the proximal tubule. Insights from cadmium. *NephronPhysiol.* 93:87-93.
- Teshima Y., Takahashi N., Nishio S., Saito S., Kondo H., Fukui A., Saikawa T.** (2014). Production of reactive oxygen species in the diabetic heart. *Circ J.* 78(2): 300-306.
- Thanan R., Oikawa S., Hiraku Y., Ohnishi S., Ma N., Pinlaor S., Murata M.** (2015). Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. *Int J Mol Sci.* 16(1): 193-217.
- Trujillo J., Chirino Y.I., Molina-Jijón E., Andérica-Romero A.C., Tapia E.** (2013). Renoprotective effect of the antioxidant curcumin: Recent findings. *Redox Biol.* 1: 448-456.
- Unsal V., Dalkıran T., Çiçek M., Köllükçü E.** (2020). The role of natural antioxidants against reactive oxygen species produced by cadmium Toxicity: A Review. *Adv Pharm Bull.* 10(2): 184-202.
- Upreti K.K., Das M., Kuman A., Singh G.B., Khanna S.K.** (1989). Biochemical toxicology of argemone oil. IV: Short-term oral feeding response in rats. *Toxicol.* 58: 285-289.

## Références bibliographiques

- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J.** (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 39: 44-84.
- Venkatesan N, Punithavathi D, Arumugam V.** (2000). Curcumin prevents adriamycin nephrotoxicity in rats. *Br J Pharmacol.* 129(2): 231-4.
- Van der Veen M., Morales J.** (2014). The roman and islamic spice trade : new archaeological evidence. *J Ethnopharmacol.* 167: 54-63. Doi: 10.1016/j.jep.2014.09.036.
- Vanessa Fiorentino T., Prioletta A., Zuo P., Folli, F.** (2013). Hyperglycemia-induced oxidative stress and its role in diabetes mellitus related cardiovascular diseases. *Cur Pharm Des.*19(32): 5695-5703.
- Waalkes M.P.** (2003). Cadmium carcinogenesis. *Mutat Res.* 533: 107-120.
- Vijaya P., Sharma S.** (2018). Protective effects of natural antioxidant supplementation on cadmium induced toxicity in albino mice. *J Innov Pharm Biol Sci.* 5(2): 16-21
- Weckbecker G, Cory JG.** (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione depended mouse leukaemia L 1210 cells n vitro. *Cancer Lett.;* 40: 257-64.
- Wichtz M., Anton R.** (2003). *Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique .* 2ème Ed, Lavoisier. 692.
- Wrobel J K., Power R., Toborek M.** (2016). Biological activity of selenium: revisited. *IUBMB life.* 68(2): 97-105.
- Xia G., Zhou L., Ma J., Wang Y., Ding L., Zhao F., Chen L., Qiu F.** (2015). Sesquiterpenes from the essential oil of curcuma wenyujin and their inhibitory effects on nitric oxide production. *Fitoterapia.* 103: 143–148.
- Yin H., Xu L., Porter N.A.** (2011). Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chem Rev.* 111(10), 5944-5972.
- Yuan G., Dai S., Yin Z.,** (2014). Toxicological assessment of combined lead and cadmium: acute and sub-chronic toxicity study in rats. *Food Chem Toxicol.* 65: 260-268.
- Zahid Ashraf M, Hussain M.E, Fahim M.** (2005). Antiatherosclerotic effects of dietary supplementations of garlic and turmeric: Restoration of endothelial function in rats. *Life Sci.* 77(8): 837-57.
- Zhao M., Zhu X., Shan D., Huang X., Xu Q.** (2022). Metabolomics in liver injury induced by dietary cadmium exposure and protective effect of calcium supplementation. *Anal Biochem.* 641: 114556.
- Zhou Y., Liu H., Jiang N., Feng X., Feng X., Zhang H., Wu Z., Liang H., Jiang Q., Chen P.** (2015). Elemene, the essential oil of curcuma wenyujin, inhibits osteogenic differentiation in ankylosing spondylitis. *Joint Bone Spine.* 82(2): 100–103.

## Références bibliographiques

---

**Zwolak I.** (2020). The role of selenium in arsenic and cadmium toxicity: an updated review of scientific literature. *Biol Trace Elem Res.* 193(1): 44-63.



# Annexes

## Annexe 1

### ✚ Mesure des paramètres biochimiques (Fiches techniques Kit Spinréact (Espagne))

#### 1/ Bilan rénal sanguin

#### ❖ Mesure de l'urée

##### • Les réactifs

<b>R 1 tampon</b>	Phosphate pH 6.7	50	mmol/l
	EDTA	2	mmol/l
	Salicylate de sodium	400	mmol/l
	Nitroprusside de sodium	10	mmol/l
<b>R 2 NaClO</b>	Hypochlorite de sodium	140	mmol/l
	Hydroxyde de sodium	150	mmol/l
<b>R 3 Enzymes</b>	Uréease	30000	U/l
<b>Urée calibrant</b>	Urée aqueux standard	50	mg/dl

##### • Préparation du réactif de travail (RT)

- ✓ Dissoudre un comprimé R 3 dans la fiole R 1, mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète.
- ✓ Le réactif R 2 est prêt pour l'usage direct.

##### • Mode opératoire

		<b>Blanc</b>	<b>Standard</b>	<b>Echantillon</b>
<b>RT</b>	<b>(ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Standard</b>	<b>(µl)</b>	--	10	--
<b>Echantillon</b>	<b>(µl)</b>	--	--	10
Mélanger et incuber pendant 5 min à 37°C				
<b>R 2</b>	<b>(ml)</b>	1.0	1.0	1.0
Mélanger et incuber pendant 5 min à 37°C				

- ✓ Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon et du standard à 580 nm contre le blanc, la couleur est stable après 30 min à une température allant de 15 à 25°C.

**Calcul** 
$$\text{Concentration de l'urée (mg/dl)} = \frac{(A) \text{ échantillon}}{(A) \text{ standard}} \times 50 \text{ (standard conc.)}$$

## ❖ Mesure de la créatinine

- **Les réactifs**

<b>R 1</b>	Acide picrique	17.5	mmol/l
<b>R 2</b>	Hydroxyde de sodium	0.29	mol/l
<b>Créatinine calibrant</b>	Créatinine aqueux standard	2	mg/dl

- **Préparation du réactif de travail (RT) :** mélanger à parts égales R 1 et R 2.

- **Mode opératoire**

		<b>Blanc</b>	<b>Standard</b>	<b>Echantillon</b>
<b>RT</b>	<b>(ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Standard</b>	<b>(µl)</b>	--	100	--
<b>Echantillon</b>	<b>(µl)</b>	--	--	100

- ✓ Mélanger et déclencher le chronomètre.
- ✓ Lire la densité optique ( $A_1$ ) après 30 secondes à 492 nm et la densité optique ( $A_2$ ) après 90 secondes.
- ✓ Calculer :  $\Delta A = \Delta A_2 - \Delta A_1$ . (La concentration du standard = 2 mg/dl).

**Calcul** 
$$\text{Concentration de la créatinine (mg / dl)} = \frac{\Delta A \text{ échantillon} - \Delta A \text{ blanc}}{\Delta A \text{ standard} - \Delta A \text{ blanc}} \times 2$$

## ❖ Mesure de l'acide urique

### • Les réactifs

<b>R 1 tampon</b>	Phosphate pH 7.4	50	mmol/l
	2-4 Dichlorophenol sulphonate (DCPS)	4	mmol/l
<b>R 2 enzymes</b>	Uricase	60	U/l
	Peroxydase (POD)	660	U/l
	Ascorbate oxidase	200	U/l
	4-Aminophenazone (4-AP)	1	mmol/l
<b>Acide urique calibrant</b>	L'acide urique aqueux standard	6	mg/dl

### • Préparation du réactif de travail (RT)

- ✓ Dissoudre le contenu de R2 dans une fiole de R1.
- ✓ Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète.

### • Mode opératoire

		<b>Blanc</b>	<b>Standard</b>	<b>Echantillon</b>
<b>RT</b>	<b>(ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Standard</b>	<b>(µl)</b>	--	25	--
<b>Echantillon</b>	<b>(µl)</b>	--	--	25

- ✓ Agiter et incuber pendant 5 min à 37° C.
- ✓ Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon et du standard à 520 nm contre le blanc.

Calcul

$$\text{Concentration de l'acide urique (mg/dl)} = \frac{(A) \text{ échantillon}}{(A) \text{ standard}} \times 6 (\text{standard conc.})$$

## 2/ Bilan lipidique

### ❖ Mesure du cholestérol

#### • Les réactifs

<b>R 1 tampon</b>	PIPES pH 6.9	90	mmol/l
	Phénol	26	mmol/l
<b>R 2 enzymes</b>	Cholestérol estérase (CHE)	300	U/l
	Cholestérol oxydase (CHOD)	300	U/l
	Peroxydase (POD)	1250	mmol/l
	4-Aminophenazone (4-AP)	0.4	mmol/l
<b>Cholestérol calibrant</b>	Cholestérol aqueux standard	200	mg/dl

#### • Préparation du réactif de travail (RT)

- ✓ Dissoudre le contenu de R2 dans une fiole de R1.
- ✓ Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète.

#### • Mode opératoire

		<b>Blanc</b>	<b>Standard</b>	<b>Echantillon</b>
<b>RT</b>	<b>(ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Standard</b>	<b>(µl)</b>	--	10	--
<b>Echantillon</b>	<b>(µl)</b>	--	--	10

- ✓ Agiter et incubé pendant 5 min à 37°C.
- ✓ Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon et du standard à 505 nm contre le blanc.

Calcul

$$\text{Concentration du cholestérol (mg/dl)} = \frac{(A) \text{ échantillon}}{(A) \text{ standard}} \times 200 \text{ (standard conc.)}$$

## ❖ Mesure des triglycérides

### • Les réactifs

<b>R 1 tampon</b>	GOOD pH 7.5	50	mmol/l
	P-chlorophénol	2	mmol/l
<b>R 2 enzymes</b>	Lipoprotéine lipase (LPL)	150000	U/l
	Glycérol kinase (GK)	500	U/l
	Glycérol-3-oxydase (GPO)	2500	U/l
	Peroxydase (POD)	440	U/l
	4-Aminophenazone (4-AP)	0.1	mmol/l
	ATP	0.1	mmol/l
<b>Triglycérides calibrant</b>	triglycérides aqueux standard	200	mg/dl

### • Préparation du réactif de travail (RT)

- ✓ Dissoudre le contenu de R2 dans une fiole de R1.
- ✓ Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète.

### • Mode opératoire

		<b>Blanc</b>	<b>Standard</b>	<b>Echantillon</b>
<b>RT</b>	<b>(ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Standard</b>	<b>(µl)</b>	--	10	--
<b>Echantillon</b>	<b>(µl)</b>	--	--	10

- ✓ Agiter bien et incubé pendant 5 min à 37° C.
- ✓ Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon et du standard à 505 nm contre le blanc.

Calcul

$$\text{Concentration des triglycérides (mg/dl)} = \frac{(A) \text{ échantillon}}{(A) \text{ standard}} \times 200 \text{ (standard conc.)}$$

## ❖ Mesure des lipides totaux

### • Les réactifs

<b>Réactif principal (R)</b>	Phosphovainilline	235	mmol/l
<b>Lipides totaux calibrant</b>	Lipides totaux aqueux standards	750	mg/dl
<b>Réactif optimal</b>	Acide sulfurique H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	80	%

Les réactifs sont prêts pour l'usage direct.

### • Mode opératoire

		<b>Standard</b>	<b>Echantillon</b>
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	<b>(ml)</b>	2.5	2.5
<b>Standard</b>	<b>(µl)</b>	100	--
<b>Echantillon</b>	<b>(µl)</b>	--	100

✓ Mélanger et incuber les tubes préparés dans un bain marie pendant 10 min à 100°C.

✓ Refroidissez dans la glace et transférez dans une cuvette.

	<b>Blanc</b>	<b>Standard</b>	<b>Echantillon</b>
<b>R (ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Standard de l'acide condensé (µl)</b>	--	50	--
<b>Echantillon d'acide condensé (µl)</b>	--	--	50

✓ Secouer entièrement les tubes en utilisant un agitateur mécanique.

✓ Incuber pendant 15 min à 37°C.

✓ Lire l'absorbance (A) de l'échantillon et du standard à 520 nm contre le blanc, la couleur est stable après 1 heure.

Calcul

$$\text{Concentration des lipides totaux (mg/dl)} = \frac{(A) \text{ échantillon}}{(A) \text{ standard}} \times 750 \text{ (standard conc.)}$$

## 3/ Bilan hépatique

### ❖ Mesure de l'aspartate aminotransférase (ASAT / TGO)

- Les réactifs

<b>R 1 tampon</b>	Tris pH 7.8	80	mmol/l
	L-aspartate	200	mmol/l
<b>R 2 substrat</b>	NADH	0.18	mmol/l
	Lactate déshydrogénase (LDH)	800	U/l
	Malate déshydrogénase (MDH)	600	U/l
	a-cétoglutarate	12	mmol/l

- **Préparation du réactif de travail (RT) :** dissoudre un comprimé de R 2 dans une fiole de R 1.

- **Mode opératoire**

<b>Réactif de travail</b>	<b>(ml)</b>	1.0
<b>Echantillon</b>	<b>(µl)</b>	100
<b>Température</b>	<b>(°C)</b>	37

- ✓ Mélanger et incuber pendant une minute.
- ✓ Lire l'absorbance initiale à 340 nm et démarrer le chronomètre simultanément.
- ✓ Lire de nouveau après 1, 2 et 3 minutes.

Calcul

$$ASAT (U/l) = \Delta A / \text{min} \times 1750$$

### ❖ Mesure de l'alanine aminotransférase (ALAT/GPT)

- Les réactifs

<b>R 1 tampon</b>	Tris pH 7.8	100	mmol/l
	L-alanine	500	mmol/l
<b>R 2 substrat</b>	NADH	0.18	mmol/l
	Lactate déshydrogénase (LDH)	1200	U/l
	a-cétoglutarate	15	mmol/l

- **Préparation du réactif de travail (RT) :** Dissoudre un comprimé de R2 dans le flacon de R1.
- **Mode opératoire**

<b>Réactif de travail</b>	<b>(ml)</b>	1.0
<b>Echantillon</b>	<b>(µl)</b>	100
<b>Température</b>	<b>(°C)</b>	37

- ✓ Mélanger et incuber pendant une minute.
- ✓ Lire l'absorbance initiale à 340 nm et démarrer le chronomètre simultanément.
- ✓ Lire de nouveau après 1, 2 et 3 minutes.

**Calcul**

$$ALAT (U/l) = \Delta A / \text{min} \times 1750$$

## ❖ Mesure de la phosphatase alcaline (PAL)

- **Les réactifs**

<b>R 1 tampon</b>	Diethanolamine (DEA) pH 10.4	1	mmol/l
	Chloride de magnésium	0.5	mmol/l
<b>R 2 Substrat</b>	p-Nitrophenylphosphate (pNPP)	10	mmol/l

- **Préparation du réactif de travail (RT)**
- ✓ Dissoudre un comprimé de R2 dans une fiole de R1.
- ✓ Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif est stable 21 jours à 2-8°C, ou 5 jours à 15-25°C.

- **Mode opératoire**

<b>Réactif de travail</b>	<b>(ml)</b>	1.2
<b>Echantillon</b>	<b>(µl)</b>	20
<b>Température</b>	<b>(°C)</b>	37

## Annexes

- ✓ Mélanger et incuber une minute
- ✓ Lire l'absorbance initiale à 405 nm et démarrer le chronomètre simultanément.
- ✓ Lire de nouveau après 1, 2 et 3 minutes.

Calcul

$$\text{PAL (U/l)} = \Delta A / \text{min} \times 3300$$

### ❖ Mesure du lactate déshydrogénase (LDH)

- Les réactifs

<b>R 1 tampon</b>	Imidazol	65	mmol/l
	Pyruvate	0.6	mmol/l
<b>R 2 Substrat</b>	NADH	0.18	mmol/l

- Préparation du réactif de travail (RT)

- ✓ Dissoudre un comprimé de R2 dans une fiole de R1.
- ✓ Mélanger doucement jusqu'à la dissolution complète.

- Mode opératoire

<b>Réactif de travail</b>	<b>(ml)</b>	3
<b>Echantillon</b>	<b>(µl)</b>	50
<b>Température</b>	<b>(°C)</b>	37

- ✓ Mélanger et incuber une minute.
- ✓ Mesurer la diminution de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minute.

Calcul

$$\text{LDH (U/l)} = \Delta A / \text{min} \times 9690$$

## ❖ Mesure de la bilirubine

### • Les réactifs

<b>R 1 (D)</b>	Acide sulfonique	30	mmol/l
	Acide hydro chlorhydrique	150	mmol/l
<b>R 2 (T)</b>	Acide sulfonique	30	mmol/l
	Acide hydro chlorhydrique	50	mmol/l
	Dimethyl sulfoxide (DMSO)	7	mol/l
<b>R 3</b>	Nitrite de sodium	29	mmol/l
<b>Facultatif</b>	Bilirubine standard	Ref : 1002250	

- **Préparation du réactif de travail** : les réactifs sont prêts à l'emploi

### • Mode opératoire

		<b>Blanc</b>	<b>B totale</b>	<b>Blanc</b>	<b>B directe</b>
<b>R 1 (D)</b>	<b>(ml)</b>	--	--	1.5	1.5
<b>R 2 (T)</b>	<b>(ml)</b>	1.5	1.5	--	--
<b>R 3</b>	<b>(µl)</b>	--	50	--	50
<b>Echantillon / Standard (µl)</b>		100	100	100	100

- ✓ Mélanger et incuber pendant 15 minutes à 15-25°C.
- ✓ Mesurer l'absorbance (A) à 555 nm.

### Calcul

$$\text{Bilirubine (mg/dl)} = ((A) \text{ échantillon} - (A) \text{ échantillon blanc}) \times \text{Facteur}$$

$$\text{Facteur} = \frac{\text{Concentration du standard}}{(A) \text{ Standard} - (A) \text{ Blanc}}$$

$$\text{Facteur théorique} \begin{cases} \text{Bilirubine totale} = 19.1 \\ \text{Bilirubine directe} = 14 \end{cases}$$

## Annexe 2

### Préparation des solutions

#### ❖ Dosage du glutathion

- ✓ Solution EDTA (0,02 M) :

Dissoudre 5,613 g EDTA dans 750ml d'eau distillée.

- ✓ Solution DTNB (0,01 M) :

Dissoudre 200 mg DTNB dans 50 ml de méthanol absolu.

- ✓ Solution d'acide salicylique (0,25 %) :

Dissoudre 250 mg d'acide salicylique dans 100 ml d'eau distillée.

#### ❖ Dosage du MDA

- ✓ Solution TCA (20 %) :

Dissoudre 20 g de TCA dans 100 ml d'eau distillée

- ✓ Solution Tris :

Dissoudre 0,15 g de tris dans 50 ml d'eau distillée

- ✓ Solution TBA (0,67 %) :

Dissoudre 0,33 g de TBA dans 50 ml de la solution tris

#### ❖ Dosage de la glutathion peroxydase (GPx)

- ✓ Solution TBS : Tris (50 mM, NaCl (150 mM) :

Dissoudre 8,775g NaCl dans 1l d'eau distillée, puis poser 6,057g Tris et compléter le volume à 1l par la solution NaCl (150 mM) et ajuster le pH à 7,4 en ajoutant HCl ou NaOH.

- ✓ Solution du GSH (0.1 mM) :

Dissoudre 3,073 mg GSH dans 100 ml d'eau distillée.

- ✓ Solution TCA (1 %) :

Dissoudre 1g TCA dans 100 ml d'eau distillée.

- ✓ Solution DTNB (1,0 mM) :

Dissoudre 100 mg DTNB dans 250 ml de méthanol absolu.

#### ❖ Dosage de la glutathion-S-transférase (GST)

- ✓ Solution CDNB (0,02 M) :

Dissoudre 202,55 mg CDNB dans 50 ml d'éthanol absolu.

- ✓ Solution GSH (0,1 M) :

Dissoudre 153,65 mg GSH dans 50 ml d'eau distillée.

- ❖ **Dosage du catalase (CAT) :**

- ✓ Tampon phosphate (0,1M) :

Solution (A) : dissoudre 35,8 g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> dans 1 l d'eau

distillée  
Solution (B) : dissoudre 13,8 g de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> dans 1 l

d'eau distillée

Mélanger 61,5 ml de la solution (A) et 438,5 ml de la solution (B), et ajouter 21,39 g de saccharose.

- ❖ **Dosage des protéines par la méthode de Bradford :**

- ✓ Solution BSA (1 mg/ml) :

Dissoudre 5 mg BSA dans 5 ml d'eau distillée.

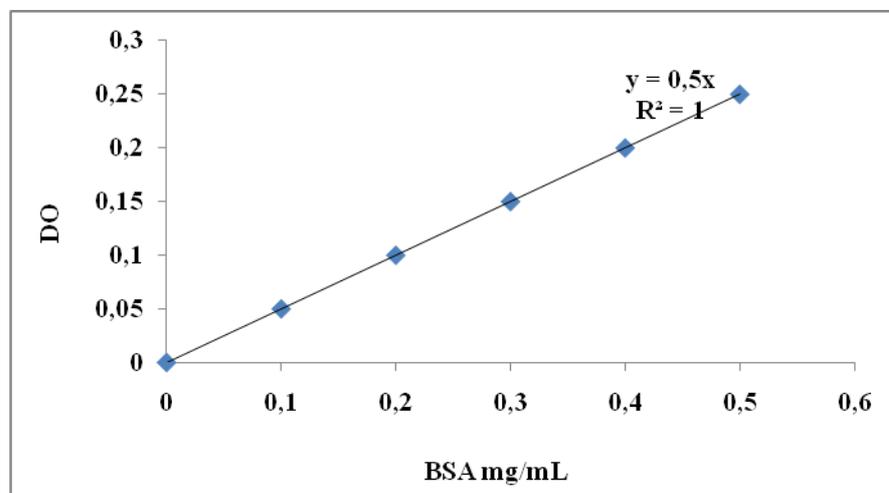
- ✓ Réactif de Bradford :

Dissoudre 100 mg de bleu de Coomassie (G 250) dans 50 ml d'éthanol (95 %).

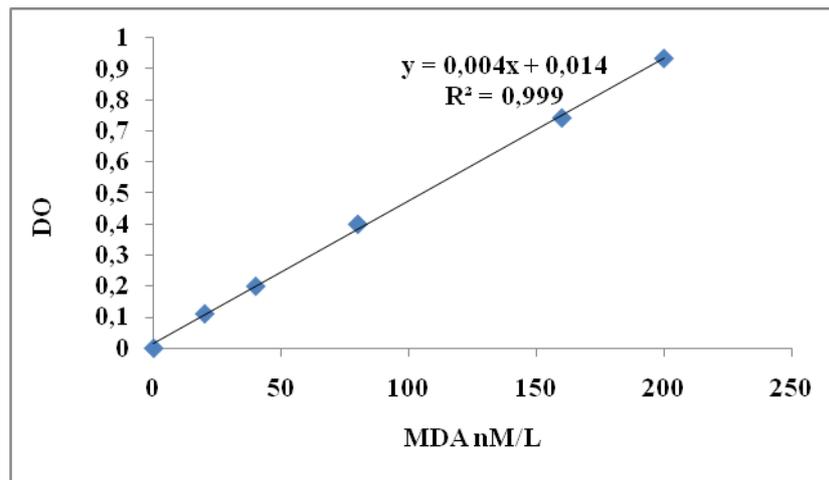
Agiter par l'agitateur pendant 2 heures, puis ajouter 100 ml d'acide orthophosphorique (85 %) et 850 ml d'eau distillée (pour obtenir 1 l de solution).

Ce réactif doit être filtré puis conserver pendant 1 mois au maximum à une température de 4 °C et à l'abri de la lumière.

- ❖ **Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines**



## ❖ Réalisation de la gamme d'étalonnage du MDA



## Annexe 3

### ❖ Préparation du Bouin alcoolique (100 ml)

Mélanger :

- ✓ 45 ml de solution d'acide picrique 1 % dans de l'éthanol (95 %)
- ✓ 26 ml de Formol.
- ✓ 07 ml d'acide acétique.
- ✓ 22 ml d'eau distillée.