



UNIVERSITE ABBES LAGHAROUR - KHENCHELA-

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE VIE

DEPARTEMENT : BIOLOGIE

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER

FILIERE : science biologique

OPTION : Biochimie Appliquée

Thème

**Contribution à l'étude des effets d'alpha-tocophérol et la
cystéine sur la toxicité de nickel chez des rats de la souche
Albino Wistar (aspect biochimique, hématologique)**

Présenté par :

GHENIMA Rima
BOUDOUAOUR Wided

Soutenu le : 00/06/2016

Jury de soutenance :

Présidente : M^{me} BOUAKKAZ Amel

M A A Univ. Abbès Laghrour - Khenchela

Promoteur: M^{me} BOUHALIT Samira

M A A Univ. Abbès Laghrour - Khenchela

Examinatrice: M^{me} MESSAI Allma

M A A Univ. Abbès Laghrour - Khenchela

Promotion : juin 2016

Remerciements

Avant tout, nous remercions Allah qui nous a donné patience, force et volonté, et nous a aidé à réaliser ce modeste travail.

Nous tenons particulièrement à remercier notre encadreur,

*Mme. **BOUHALIT S.***

Maître assistant A à l'université Abbes Laghrour Khenchela, pour sa gentillesse, sa confiance, ses encouragements et ses conseils durant la période de réalisation de ce mémoire.

*Nous remercions aussi Mme **BOUAKAZ A** Maître assistant A à l'université Abbes Laghrour Khenchela et Mme **MESSAI A***

Maître assistant B à l'université Abbes Laghrour Khenchela, pour leur collaboration, et d'avoir accepté de juger notre travail.

*Nous remercions la clinique **EL BALSEM EL CHAFI** pour le dosage des paramètres hématologique.*

*Nous remercions la polyclinique **EL REMILA** pour leur permission de réalisation de la dosage biochimique dans leur laboratoire.*

Nous adressons également, nos remerciements à l'équipe du laboratoire de recherches scientifiques de l'université de Khenchela pour leurs orientations.

Dédicace

Wided

A Dieu tout puissant

D'avoir été toujours là pour moi, surtout dans les moments difficiles et de m'avoir donné la conviction que je puisse arriver au terme de ce travail. Je remercie dieu pour ce que j'ai et ce que je suis.

A mes parents

Votre confiance et votre patience sont mes biens les plus précieux, ni mon amour, ni rien au monde ne pourrait compenser tous les sacrifices que vous aviez consentis en ma faveur et que vous consentiez encore.

*A mon mari **KHALID B***

Ma source de lumière, d'espoir et de bonheur, que dieu te protège. Veuillez trouver ici l'expression de mon profond amour et ma grande reconnaissance.
*A mon frères **YOUNES** et mes sœurs : **BESMA, AHLEM, RAYANE, NAWEL***
*et **RITADJ***

Pour leur affection. Que dieu leur accorde le succès, le bonheur et la santé et renforce notre union familiale.

*A toute la famille surtout ami **MASAOUD***

*Et pour toute mes amis surtout : **HANA, MERIEM, HOUDA.***

*A mon binôme **GHENIMA Rima***

A tous ceux et toutes celles qui m'ont encouragé et m'ont souhaité du bien de près ou de loin. Et témoignage de ma profonde affection.
Sans oublier mes camarades de la promotion 2ème année Master

Biochimie appliquée (2015/2016).

Dédicace

Rima

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, c'est tous simplement que : Je dédie cette mémoire de master :

A Ma tendre Mère *Nafджа* : Tu représente pour moi la source de

Tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

A Mon très cher Père *Hamid* : Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.

A ma soeurs : *Amel*.

A mes chers frère : *Samir, Nabil, Sayeh, Saber, Sami, et Aymen*.

Je vous souhaite beaucoup de bonheur et de réussite.

À toute ma familles. et toute personne qui me connaisse et me considère

A ma très cher amis *Wissem Lahmari*,

A mon binôme *BOUDOUAOUR Wided*,

A tous les membres de ma promotion.

avec qui j'ai partagé les joies et les difficultés durant ces années.

Liste des figures

Figure 1 : Les mécanismes génotoxiques de nickel.D'après (Oller <i>et al.</i> , 1997).	13
Figure 2 : Représente l'origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Favier, 2003).....	19
Figure 3 : Représente le schéma des défenses antioxydantes enzymatiques (Halliwell et Gutteridge, 2007).....	25
Figure 4 : Représente la structure chimique de la Vitamine E. Les doubles liaisons indiquées en rouge ne sont pas présentes dans les tocophérols (Hoppe et Krennrich, 2000).....	29
Figure 5 : Représente le mécanisme d'absorption, transport, distribution de la vitamine E d'après Azzi et stocker, 2000.....	31
Figure 6 : Représente l'effet de la vitamine E au niveau des trois phases de la peroxydation lipidique (Burton, 1990).....	32
Figure 8 : Shéma récapitulatif du protocole expérimental.....	41
Figure 9 :Evaluation en fonction du temps (jours), gain du poids corporel (g) chez le lot témoin et les lots traités au nickel, Cys, Vit E et à la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E.....	56
Figure 10 : Variation de la concentration sérique de glucose chez le lot de témoin et les lots traités à la nickel, cystéine, vit E et à la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E.....	57
Figure 11 : Variation de la concentration sérique de triglycéride, cholestérol chez le lot de témoin et les lots traités au nickel, VitE, Cys et à la combinaison Ni/Cys Ni/Vit E.....	58

Figure 12: Variation de la concentration sérique de l'urée et créatinine chez le lot de témoin et les lots traités au nickel, Cys, Vit E et a la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E.....	60
Figure 13: Variation de la concentration sérique d'aspartate aminotransférase (AST/TGO), d'alanine aminotransférase (ALT/TGP), chez le lot de témoin et les lots traités au nickel, Cys, Vit E a la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E.....	62
Figure 14: Variation du nombre des globules rouge (n GR), des globules blancs (n GB), du taux moyen d'hémoglobine(HB), du pourcentage d'hématocrite (HT), chez le lot de témoin et les lots traités au nickel, Cys, Vit E et a la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E.....	64

Liste des tableaux

Tableau I: Propriétés physiques et chimiques des composés de nickel. D'après Kirk., 1981.....	2
Tableau II : Variation de gain du poids corporel chez le lot témoin (T) et les différents lots traités au nickel, Vit E, Cys, et a la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E.....	55
Tableau III : Variation de la concentration sérique du glucose, triglycéride, cholestérol chez le lot de témoin et les lots traités au nickel, Vit E, Cys et a la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E.....	56
Tableau IV : Variation de la concentration sérique de l'urée, créatinine et l'acide urique chez le lot de témoin et les lots traités au nickel, Vit E, Cys et a la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E.....	58
Tableau V : Variation de la concentration sérique de l'activité enzymatique de l'aspartate aminotransférase (AST/TGO), l'alanine aminotransférase(ALT/TGP) chez le lot de témoin et les lots traités au nickel, Cys, Vit E et a la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E.....	61
Tableau VI : Variation du nombre des globules blancs (n GB) , des globules rouge (n GR), du taux moyen d'hémoglobine(HB), du pourcentage d'hématocrite (HT) , chez le lot de témoin et les lots traits au nickel, Cys, Vit E et a la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E.....	62

Liste des abréviations

CL 50: Concentration Létale Moyenne

Cu: Cuivre.

Cu/Zn-SOD: Superoxyde dismutase aux ions cuivre et zinc.

CL 50: Concentration Létale Moyenne.

DL 50: Dose Létale Moyenne.

EDTA: Ethylène diamine tétra-acétique.

ERO: Espèces Réactives de l'Oxygène.

G6PDH: Glucose-6-phosphate déshydrogénase.

GPX: La Glutathion peroxydase.

GR: Glutathion réductase.

GSH: Glutathion réduit.

GSSG: Glutathion oxydé.

GST: Glutathion S-transférase

H2O2: Le peroxyde d'hydrogène.

LDOPA: L-dihydroxyphénylalanine.

LTOPA: L-trihydroxyphénylalanine.

LOOH: Hydroxyde lipidique.

LPO: Les peroxydes lipidiques.

Mn-SOD: Superoxyde dismutase associée au manganèse.

NADPH: Nicotinamide dinucleotide phosphate.

Ni: Nickel.

•OH: Radical hydroxyle.

1O₂: Oxygène singulet.

O₂^{-•}: Radical superoxyde (anion superoxyde).

ROO•: Radical peroxyde.

ROOH: Hydroperoxydase.

ONOO•: peroxydinitrite.

ROS: Reactive oxygen species ou Espèces activées de l'oxygène.

SOD: Superoxyde dismutase.

TCA: Trichloroacétique.

TGMH: Teneur globulaire moyenne en hémoglobine.

TrxR: Thiorédoxine réductase.

U: Unité enzymatique.

Vit E: Vitamine E.

Mn: manganèse

IgG, IgA, IgM et IgE : immunoglobulines sériques (G, A, M, E)

ADN: acide –désoxyribose- nucléique.

UV: Ultra-violets.

LDL: Lipoprotéines de densité légère.

Cys: l-cystéine.

Ip : intra péritonéale.

Table des matières

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures.....	III
Liste des tableaux.....	V
Introduction.....	1

Partie I : Synthèse Bibliographique

Chapitre I: Le nickel

1-Définition.....	3
2- Sources d'exposition.....	3
3- Utilisation.....	6
4- Le mécanisme d'action de nickel.....	6
5- Métabolisme du nickel.....	7
5.1. Absorption.....	7
5-2. Distribution.....	8
5-3. Excrétion.....	8
6. Evaluation toxicologique.....	9
6.1. Toxicité aiguë.....	9
6.2. Toxicité chronique.....	10
6.3. Toxicologie subchronique.....	11
7. Mutagénicité, et génotoxicité du nickel.....	12
8. Effets cancérigènes.....	13

9. Effets sur la reproduction.....	13
10. Manifestations allergiques.....	14

Chapitre II. Le stress oxydant

1. Généralités.....	16
2. Les radicaux libres biologiques.....	16
3. Sources et réactions des ERO.....	17
4. Principales cibles biologiques des EOR.....	19
4.1. L'acide désoxyribonucléique ou ADN.....	20
4.2. Les protéines.....	20
4.3. Les lipides membranaires.....	21
4.4. Les lipoprotéines.....	21
5. Les systèmes de défenses anti-oxydantes.....	21
5.1. Les systèmes enzymatiques.....	22
5.1.1. Superoxydesdismutases.....	22
5.1.2. Les catalases.....	23
5.1.3. Glutathion peroxydases.....	23
5.1.4. Glutathion S-Transférases.....	24
5.2. Les défenses non-enzymatiques.....	25
5.2.1. Le glutathion.....	25
5.2.2. La vitamine C.....	26
5.2.3. La vitamine E.....	26

5.2.3. Les oligoéléments.....27

Chapitre IV : La vitamine E

1. Définition et structure de la vitamine E.....28

2. Les sources de vitamine E.....29

3. Métabolisme, absorption, distribution et excrétion.....29

4. Rôles biologiques de la vitamine E.....31

Chapitre IV : Cystéine

1. Généralité.....33

2. Devenir dans l'organisme.....33

3. Biosynthèse de la l-cystéine.....34

4. Catabolisme de la l-cystéine.....35

Partie II : Partie expérimental

Chapitre I : Matériels et méthodes

1. Matériel biologique et conditions d'élevage.....38

2. Méthodologies.....38

2.1. Protocole expérimentale.....38

2.2. Préparation des prélèvements.....39

2.3. Dosage des paramètres biochimiques.....41

2.3.1. Dosage de glucose.....41

2.3.2. Dosage de cholestérol.....43

2.3.3. Dosage de triglycérides.....44

2.3.4. Dosage de l'urée.....46

2.3.5. Dosage de la créatinine.....48

2.3.6. Dosage de l'acide urique.....	49
2.3.8. Dosage de TGO.....	50
2.3.9. Dosage de TGP.....	52
2.4. Evaluation de la toxicité hématologique.....	53
2.5. Analyse statistique des données.....	54
RESULTATS	
1. Variation du poids corporel.....	55
2. Etude biochimique.....	56
3. Etude hématologique.....	63
Discussion.....	67
Conclusion et perspectives.....	72
Références bibliographiques.....	74

Introduction

La toxicité des métaux et de leurs dérivés est connue depuis très longtemps. Cependant la toxicité varie selon la forme chimique et la dose du métal induisant ainsi le stress oxydant qui est un syndrome résultant d'un déséquilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la production de radicaux libres oxygénés. Ce déséquilibre est très dommageable pour les macromolécules essentielles de nos cellules, entraînant anomalies d'expression des gènes et des récepteurs membranaires, prolifération ou mort cellulaire, troubles immunitaires, mutagenèse et d'autres (**Favier, 2006 ; Baudin, 2006**).

Le nickel est un polluant environnemental potentiellement carcinogène (**Poey et Philibert, 2000**). L'exposition au nickel peut provoquer des effets toxiques sur de nombreux tissus en l'occurrence, les reins, le foie, les poumons, et sur l'hématopoïèse, la reproduction et sur le développement. L'accumulation de ce corps toxiques dans l'organisme est susceptible de déclencher une réaction de défense (**Chen et al., 2003; Chiffolleau, 2001**).

Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydant pour éliminer ou minimiser le dommage oxydatif. Selon le type, les antioxydants peuvent agir en réduisant ou en dismutant les ERO, en les piégeant pour former un composé stable, et agissent à différents niveaux de la cascade d'activation de l'oxygène et sont de plusieurs natures, l'organisme dispose d'un vaste réseau d'antioxydants ou de défense qui ne se limite pas qu'aux vitamines (C et E) et aux oligoéléments (cuivre et zinc) (**Mates, 1999**).

Les composés riches en soufre, tels que la cystéine et la méthionine, sont présentes dans toutes les cellules de l'organisme animales et sont indispensables à leur survie. Ils sont apportés dans l'alimentation par deux acides aminées : l'un indispensable, la méthionine, l'autre non indispensable, la cystéine. D'un point biochimique, il est désormais couramment admis que la cystéine et la méthionine possédant des propriétés antioxydants pour atténuer des dommages oxydants induits par des produits chimiques, Ces propriétés sont dues au fait que ce sont des constituant essentiel du glutathion ; un puissant antioxydant également indispensable à la détoxification des cellules de corps (**Patra et al., Ramanathan et al., 2002**).

Ainsi, dans cette étude notre travail à pour but d'étudié les effets nocifs du nickel administré par voie intra péritonéale sur certains impact pondéraux, biochimiques et hématologiques chez des rats de souche Wistar, et d'évaluer les effets de Cystéine, et de vitamine E, afin d'établir si ces deux derniers peuvent protéger contre les effets cytotoxique de nickel.

I.1. Définition du nickel

Le chimiste suédois *Alex Cronstedt* a été le premier à isoler le nickel en 1751, il est le quatrième métal le plus utilisé au monde (**Kazimierz et al., 2003**).

Le nickel est un métal lourd, blanc argenté et l'un des micronutriments essentiels pour la croissance et le développement des plantes et il est également un oligo-élément essentiel pour l'organisme, dont les carences sont graves. La dose quotidienne de nickel ingéré se situe idéalement entre 100 et 300 µg/jour, mais peut varier de 100 à 800 µg selon les habitudes alimentaires. C'est un allergène puissant, ubiquitaire et un carcinogène prouvé (**Stoltz et al., 2003**). Dans l'environnement, le nickel est surtout combiné à l'oxygène (oxydes) ou au soufre (sulfures) (**Mouffok, 2008**). Il représente 0,8 à 0,9 % de la croûte terrestre, sa concentration moyenne étant d'environ 75 mg/g.

Il est présent dans divers minerais : la chalcopyrrite, la pentlandite, la garniélite et secondairement la niccolite et la millérite (**INERIS, 2006**). Sa conductivité électrique et sa conductivité thermique sont élevées, son point de fusion est de 1452 °C. Son numéro atomique est 28 et il a une masse atomique de 58,7 (tableau I). Il existe sous les états d'oxydation -1, 0, +1, +2, +3 et +4, mais son état de valence le plus courant dans l'environnement est Ni²⁺ (**Valko et al., 2005**).

Le nickel existe sous 4 formes principales :

- nickel élémentaire et ses alliages
- composés inorganiques et hydrosolubles : (sulfates et les chlorures de nickel).
- composés inorganiques et insolubles dans l'eau : oxydes de nickel.
- composés organiques et insolubles dans l'eau : nickel carbonyle Ni(CO)₄ (**Sunderman et al., 1987 ; Haber et al., 2000**).

I.2. Sources d'exposition

La présence de nickel dans l'environnement est naturelle et anthropique. Les sources naturelles de nickel atmosphérique comprennent la poussière de sol, le sel de mer et les particules en suspension, après avoir été rejeté par des activités humaines ou des phénomènes naturels, comme les éruptions volcaniques, les incendies de forêts et les météorites provenant de la haute atmosphère (**Brun, 1979 ; Echevarria et al., 2006**). De

plus les aliments contiennent naturellement de petites quantités de nickel. La viande et le poisson sont également relativement riches en nickel. Les margarines contiennent des quantités de nickel élevées, puisque celui-ci est utilisé comme catalyseur dans l'hydrogénation commerciale (**Stoltz *et al.*, 2003; Brun, 1979**).

Les principales sources anthropiques sont la combustion de charbon ou de fuel, l'incinération des déchets, l'épandage des boues d'épuration, l'extraction et la production de nickel, la fabrication de l'acier, le nickelage et les fonderies de plomb.

Enfin, on trouve le nickel dans les détergents.

Tableau 1: Propriétés physiques et chimiques des composés de nickel. D'après Kirk,

1981

	Formule Numéro CAS*	Masse molaire	Point de fusion °C	Point d'ébullition °C sous p. atm.	Densité g/cm ³	Solubilité
Nickel métal	Ni 7440-02-0	58,69	1455	2730	8,9	Insoluble dans l'eau et dans les solvants organiques. Se dissout lentement dans les acides forts
Oxyde de nickel	NiO 1313-99-1	74,69	1984	–	6,67	Pratiquement insoluble dans l'eau (0,1mg/100 ml à 20 °C). Soluble dans les acides et dans l'ammoniaque.
Hydroxyde de nickel	Ni(OH) ₂ 12054-48-7	92,70	230déc.	–	4,15	Très peu soluble dans l'eau (10mg/100ml à 20 °C). Soluble dans les acides et l'ammoniaque.
Carbonate de nickel	NiCO ₃ 3333-67-3	118,72	déc.	–	2,6	Très peu soluble dans l'eau (10mg/100ml à 20 °C). Soluble dans les acides.
Carbonate basique de nickel hydrate	2NiCO ₃ , 3NiOH ₂ , 4H ₂ O 65405-96-1	587,57	déc.	–	–	Insoluble dans l'eau. Soluble dans les acides et dans l'ammoniaque.
Chlorure de nickel hexahyd-Rate	NiCl ₂ , 6H ₂ O 7718-54-9	237,69	–	–	–	Très soluble dans l'eau (254g/100ml à 20 °C). Soluble dans l'éthanol et dans l'éthyléneglycol.
Nitrate de nickel hexahyd-Rate	Ni(NO ₃) ₂ , 6H ₂ O 13138-45-9	270,79	56,7	136,7	2,05	Très soluble dans l'eau (238g/100ml à 0 °C). Soluble dans l'éthanol et dans l'éthyléneglycol.
Sulfate de nickel hexahyd-Rate	NiSO ₄ , 6H ₂ O 7786-81-4	262,79	tr.53,3	–6H ₂ O à 103	2,07	Facilement soluble dans l'eau (65g/100ml à °C). Soluble dans l'éthanol et le méthanol.

I.3. Utilisation

Les composés du nickel sont aussi employés dans divers produits et procédés. Le nickel est utilisé dans la production d'aciers inoxydables et d'autres d'aciers spéciaux. La présence de nickel dans ces produits améliorant leurs propriétés mécaniques et leur résistance à la corrosion et à la chaleur.

- ✓ Préparation d'alliages non ferreux notamment pour la fabrication de pièces de monnaie, d'outils, d'ustensiles de cuisine et de ménage, bijoux ...
- ✓ Dans les batteries alcalines nickel –cadmium.
- ✓ La fabrication de pigments minéraux pour métaux et céramiques et comme catalyseur en chimie organique.
- ✓ Revêtement électrolytique des métaux (nickelage) (**Kirk, 1981**).

Le nickel à usage métallurgique est fourni soit sous forme massive de nickel pur (cathodes, billes...), soit sous forme massive de ferronickel (25 à 35 % de nickel), soit encore sous forme d'oxyde de nickel brut (**Lu et al., 2005; Von Burg, 1997; CARB, 2008; ATSDR, 2005**).

L'oxyde de nickel (NiO) est utilisé dans la fabrication de sels de nickel, de ferrite, de catalyseurs. Il est également employé comme colorant pour le verre et est utilisé dans les peintures pour porcelaine (**PISSC, 1991; CARB, 2008**).

I.4. Le mécanisme d'action de nickel

Une fois entré dans la cellule dans la cellule, les effets de nickel dépendent de sa solubilisation et des doses présentes d'ions Ni^{2+} , (**Hansen et Stern, 1984 ; Costa et al., 1981**). La capacité de captage par les cellules est directement corrélée à la capacité des dérivés du nickel à élever les taux intracellulaire. Les structures cristallines de NiS sont accumulées dans les vacuoles cytoplasmiques en périphérie du noyau ou il se produit une acidification progressive avec dissolution puis relargage de Ni^{2+} à la préphérie du noyau ou ont lieu des interactions préférentielles avec les régions hétéro chromatiques. Il se forme alors des complexes ADN-protéine et des cassures de brins (**Snow er Costa, 1998**).

Une autre interaction est l'inhibition de la transcription des gènes supresseurs de tumeurs consécutive à la méthylation de l'ADN et aux modifications structurales de la chromatine (**Lee et al., 1995**).

I.5. Métabolisme du nickel

Le nickel et ses oxydes sont faiblement absorbés qu'elle soit la voie d'administration. Ils sont transportés dans l'organisme via un complexe ternaire albumine-histidine.

I.5.1. Absorption

Le nickel et ses composés sont directement corrélés avec la solubilité des composés, les plus solubles étant les mieux absorbés par les tractus pulmonaire et digestif, et moins par la peau (**Ishimatsi et al., 1995**).

Environ 20 à 35% du nickel et ses composés sont absorbés par voies respiratoires, sous forme de composés peu solubles sont absorbés dans le sang à partir des voies respiratoires (**Sunderman et Oskarsson, 1991**). Les composés solubles du nickel (chlorure, sulfate) sont plus facilement absorbés par le tractus respiratoire.

Par voie orale, quarante fois plus de nickel sont absorbés par le tractus gastro-intestinal. Le sulfate de nickel est administré dans l'eau de boisson est plus facilement absorbé que dans la nourriture (**Sunderman et al., 1989 ; Solomons et al., 1982**).

L'absorption du nickel existe également par voie cutanée. Cette voie est peu significative quantitativement mais importante cliniquement dans la pathogénie de la dermatite de contact. Il n'existe pas de différence d'absorption du nickel par voie cutanée entre les sujets hypersensibles et les autres (**Lloyd, 1980**).

I.5.2. Distribution

La distribution du nickel varie selon la voie d'administration. (**Nielsen et al., 1993**), la voie d'exposition (**PISSC, 1991**), la forme chimique et le temps après exposition (**Coogan et al., 1989**).

Après absorption, le nickel se distribue largement dans les tissus, les plus fortes concentrations étant retrouvées dans le rein (**Ishimatsu et al., 1995 ; Dieter et al., 1988**), mais aussi au niveau de foie, puis dans le poumon, la thyroïde, les glandes surrénales le coeur, le cerveau, la rate et le pancréas (**Rezuke et al., 1987**) et les testicules peuvent accumulés aussi le métal a une ampleur beaucoup moindre (**Ambrose et al., 1976**). Après exposition par inhalation les concentrations de nickel sont beaucoup plus élevées dans les poumons que dans le foie et les reins .En effet, des travailleurs exposés par inhalation au nickel présentent des taux pulmonaires plus élevés que la population générale (**Solomons et al., 1982; Christensen et Lagessen, 1981**).

Dans le sérum, le nickel est lié à l'albumine, la L-histidine et l' α -2 macroglobuline. Une faible fraction est liée aux acides aminés (cystéine et histidine). Chez les humains, les rats et les bovins, la fixation du nickel à l'albumine sérique se réalise au niveau d'un résidu histidine (**Hendel et Sunderman, 1972 ; Sarkar, 1984**).

I.5.3. Excrétion

L'excrétion du nickel dépend de l'origine de l'exposition. Après inhalation, le nickel particulaire insoluble est très lentement éliminé, ce qui entraîne une accumulation avec le temps. Son élimination se réalise majoritairement par les urines (**ATSDR, 1988**). En cas d'ingestion, la plus grande partie du nickel (non absorbé) est excrété par les fèces à des taux très variables et un peu également dans la sueur (**Onkelinx et al., 1973**). Ainsi, d'autres voies mineures tels que la salive, les sécrétions gastrique, le lait maternel, les menstruation et placenta (**Grandjean et al., 1989**).

La demi-vie chez l'animal est de 48 à 72 heures. Chez l'homme, la demi-vie plasmatique est de l'ordre de 20 à 34 heures ; la plus forte concentration plasmatique est mesurée après 1 h 30 à 3 h post-exposition alimentaire (**Nielsen et al., 1999**).

I.6. Evaluation toxicologique

Les effets sur la santé de l'exposition au nickel dépendent du type, de la concentration et de la durée de l'exposition (aigues, sous-chronique et chronique). Il faut également tenir compte de certains facteurs comme l'âge, le sexe, l'alimentation, le style de vie et la santé de la personne. En général, les concentrations typiques de nickel n'ont pas d'effets nocifs sur la santé.

I.6.1. Toxicité aiguë

les sels solubles de nickel (le dichlorure de nickel, le sulfate de nickel, le dinitrate de nickel et le bis (sulfate) de diammonium et de nickel) ont une toxicité aiguë qui varie de modérée à très élevée chez le rat avec des doses létales 50 (DL50) de 42,5 à 112 mg par kilogramme de masse corporelle, alors que la poudre de nickel et les sels de nickel insolubles (monoxyde de nickel vert ou noir, disulfure de trinickel et sulfure de nickel amorphe) présentent une toxicité aiguë moins élevée (DL50 de 3 235 à 9 000 mg/kg) (**Camner et Johansson, 1992; Camner *et al.*, 1978**).

Chez l'animal, les composés solubles du nickel apparaissent plus toxiques que les composés peu solubles après exposition orale aiguë. Les principaux signes observés incluent :

- ✓ Des troubles rénaux (rat, souris et chien) ;
- ✓ Des effets cardiovasculaires, gastro-intestinaux, hématologiques et hépatiques (rat) ;
- ✓ Une atteinte pulmonaire (chien et rat) ;
- ✓ Des troubles neurologiques (rat) (**ATSDR, 2005**).

Chez l'homme, La toxicité aiguë se décompose en deux phases : immédiate et retardée. La symptomatologie immédiate se manifeste par des maux de tête, des vertiges, des nausées, des vomissements, de l'insomnie et de l'irritabilité. Elle est suivie d'une période asymptomatique avant le début de la phase retardée. Celle-ci est essentiellement pulmonaire avec des douleurs constrictives dans la poitrine, une toux sèche, une dyspnée, une cyanose, une tachycardie, des symptômes gastro-intestinaux occasionnels, une sudation, des perturbations visuelles et une débilité (**Rendall *et al.*, 1994**).

Un cas de décès d'un enfant de 2 ans et demi a été rapporté après une absorption de cristaux de sulfate de nickel estimée à 250 mg/kg (**Daldrup et al., 1983**).

Chez 35 salariés ayant consommé accidentellement l'eau d'une fontaine contaminée par du sulfate de nickel, du chlorure de nickel (ingestion estimée entre 0,5 g et 2,5 g, soit 7,1 à 35,7 mg/kg), 20 individus ont présenté des symptômes pendant quelques heures jusqu'à deux jours (nausées, vomissements, douleurs abdominales, diarrhées, céphalées, vertiges) et 10 ont été hospitalisés (3 présentant une augmentation transitoire de la bilirubine sérique, de l'albumine urinaire et de l'hématocrite) (**Sunderman et al., 1988**).

Par inhalation une exposition unique de 36,5 mg de nickel/m³ (Ni sulfate) chez des rats pendant 2 heures, quatre morts ont été observés dans les deux jours suivant l'exposition (**Hirano et al., 1994**). Certaines études indiquent notamment que l'ingestion de nickel peut aggraver un eczéma sans pour autant pouvoir formellement définir un seuil de déclenchement (**Haber et al., 2000**).

I.6.2. Toxicité chronique

Les études chez l'homme indiquent que le système respiratoire est la cible principale de la toxicité du nickel par inhalation. Une augmentation de l'incidence des décès par pathologie respiratoire a été trouvée chez des travailleurs exposés chroniquement à des concentrations supérieures à 0,04 mg de nickel /m³ sous forme de monoxyde ou de métal (**Cornell et Landis, 1984**). Les effets respiratoires étaient de type bronchite chronique, emphysème, diminution de la capacité vitale.

Chez 28 travailleurs exposés au nickel (composé non précisé), une augmentation significative des IgG, des IgA et des IgM et une diminution significative des IgE a été observée (**Shannon et al., 1991**). Par ailleurs, une augmentation significative d'autres protéines sérique pouvant être impliquées dans l'immunité à médiation cellulaire (alpha1-antitrypsine, alpha2- macroglobuline) a été observée. Ces modifications suggèrent que le système immunitaire a été stimulé par l'exposition au nickel (**INERIS, 2006**).

Des rats et des souris ont été exposé par inhalation au sulfure de nickel par inhalation 6 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 90 jours à des concentrations de

0,1 à 1, 8 mg de nickel/m³ (**Bencko et al., 1983 ; Dunnick et al., 1989**). Une hyperplasie des macrophages alvéolaire a été notée chez les rats à toutes les concentrations et chez les souris à partir de 0,2 mg/m³. Pour les plus fortes concentrations, une inflammation chronique active et une fibrose interstitielle focale chez certaines souris a été observée (**INRIS, 2006**).

L'exposition chronique pendant deux ans de rats et de souris à du monoxyde de nickel (0-2 mg/m³ pour les rats, 0-3,9 mg/m³ pour les souris), du sous sulfure de nickel (0-0,73 mg/m³ pour les rats, 0-0,88 mg/m³ pour les souris), et du sulfate de nickel (0-0,11 mg/m³ pour les rats, 0-0,22 mg/m³ pour les souris) a entraîné des lésions respiratoires (**Ottolenghi et al., 1974**). Les lésions incluaient une augmentation du poids des poumons, une inflammation et/ou une fibrose des poumons. Une atrophie de l'épithélium olfactif a été observée avec le sulfate de nickel (**INRIS, 2006**).

Une hyperplasie des ganglions lymphatiques bronchiques a été observée avec le monoxyde de nickel (0,5 mg/m³ pour les rats, 1 mg/m³ pour les souris), le sous sulfure de nickel (0,11 mg/m³ pour les rats, 0,44 mg/m³ pour les souris) et le sous sulfate (0,11 mg/m³ pour les rats, 0,22 mg/m³ pour les souris) (**Spiegelberg et al., 1984**)

I.6.3. Toxicologie subchronique

Un certain nombre d'études chez l'homme et chez l'animal suggèrent que l'exposition aux sels solubles de nickel entraîne l'apparition d'effets systémiques sur les reins, la mortalité néonatale et des effets sur le système immunitaire. Le rein constitue le principal organe cible tant chez l'animal que chez l'homme (**Dieter et al., 1988; Smith et al., 1993**).

I.7. Mutagénicité, et génotoxicité du nickel

Comme il est habituel avec les métaux, les résultats des essais de mutagénèse sont très discordants, variant largement selon le composé utilisé et les conditions expérimentales; il n'est pas possible de généraliser les résultats obtenus (Pichard., 2006). Le nickel métal et le monoxyde de nickel donnent des résultats positifs *in vitro* dans les tests de mutations géniques sur cellules de mammifères, d'aberrations chromosomiques et dans les essais de transformations cellulaires (ATSDR, 2005).

Plusieurs études expérimentales et épidémiologique ont montré que le nickel (Ni^{2+}) est génotoxique (Costa *et al.*, 2002 ; Chen *et al.*, 2003). Les mécanismes de cette génotoxicité sont multiples soit par cassures mono brin de l'ADN pour des très faibles concentration avec activation de la poly ADN-ribose polymérase qui est normalement induite en présence de lésion dans l'ADN (Cai et Zhuang, 1999 ; Lei *et al.*, 2001), soit par la production d'espèces réactives de l'oxygène tel que le radicale hydroxyle Figure 1 , (Chen *et al.*, 2003 ; Costa *et al.*, 2002) ou par inhibition à des concentration non cytotoxiques de (Ni^{2+}) des processus de réparation des lésions de l'ADN causés entre autres par les UV (Hartwig *et al.*, 1994; Hong *et al.*, 1997).

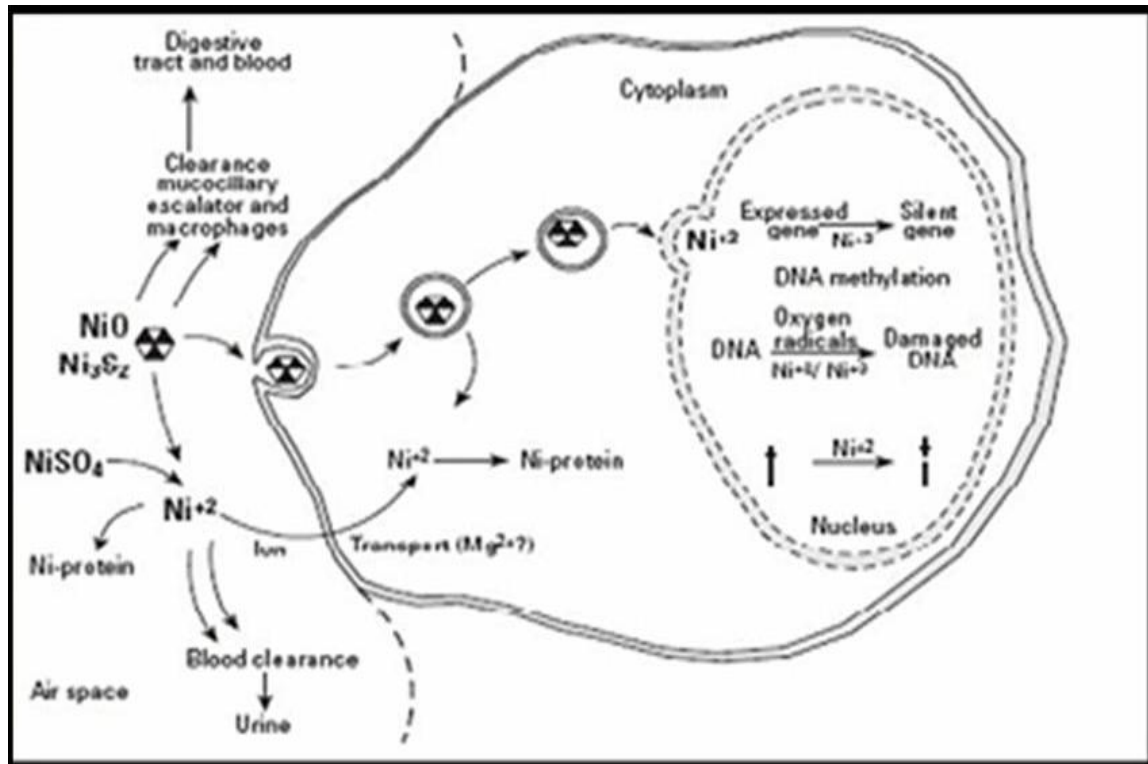


Figure 1 :Les mécanismes génotoxiques de nickel.D'après (Oller *et al.*, 1997)

I.8. Effets cancérigènes

Le nickel est cancérigène responsable de certains cancers du poumon en milieu professionnel chez l'homme et l'animal. C'est principalement l'inhalation de composés solubles qui est associée avec le risque le plus élevé de cancer des voies aériennes. En 1990 ; le nickel et les composés du nickel ont été classés par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) dans le groupe 1 « cancérigène chez l'animal de laboratoire (Denkhaus *et al.*, 2002). Chez des rats Fisher 344 l'exposition chronique à des poussières de nickel a entraîné une augmentation des tumeurs pulmonaires (Dunnick *et al.*, 1995). Les études expérimentales disponibles pour juger de la cancérigénicité du nickel par voie orale sont peu nombreuses (Haber *et al.*, 2000).

I.9. Effets sur la reproduction

De nombreuses études indiquent une diminution du nombre et de la qualité des cellules males au cours de ces dernières années (Jegou, 1996). une dégénération des testicules chez des rats exposés à du disulfure de nickel à des concentrations de nickel de

1,8 mg/m³ et plus et chez des souris exposées au même composé à des concentrations de nickel de 3,6 mg/m³ et plus (**Benson et al., 1988**).

En revanche, une dégénérescence tubulaire des testicules a été observée chez des rats exposés par voie cutanée avec du sulfate de nickel à la dose de 60 mg de nickel/kg/jour pendant 30 jours (**Mathur et al., 1977**). Ainsi, chez le rat le nickel agit dans le testicule directement sur les cellules de Leydig en réduisant l'activité des enzymes de la stéroïdogénèse testiculaire et des concentrations plasmatiques en testostérone et en augmentant celles du cholestérol et de l'acide ascorbique dans le testicule de rat (**Das et al., 2002**) et diminue le nombre de spermatogonies et augmente la contraction des tubes séminifères. Chez la souris, le NiCl₂ provoque des anomalies de la tête spermatique et des aberrations chromosomiques (**Sobti et Gill, 1989**).

Chez la femelle cyclique le nickel affecte le développement et la maturation des follicules de l'ovaire, réduit également la stéroïdogénèse ovarienne et perturbe la fonction hypophysaire (**Wang et Zhn, 2003**).

Les données disponibles par inhalation sur les oxydes de nickel n'indiquent pas d'effet sur la fertilité ou le développement des animaux traités.

I.10. Manifestations allergiques

Le nickel est un allergène, responsable de dermatites de contact. Globalement, l'incidence de l'allergie au nickel est de l'ordre de 8 à 14 % dans la population féminine, et de 1% dans la population masculine (**Haber et al., 2000**).

Le nickel est connu depuis longtemps comme l'allergène le plus courant pour la peau. La sensibilisation est le plus souvent due au contact journalier avec des objets usuels (bijoux, boutons, pièces de monnaie, ustensiles divers...). 20% des allergies seraient liées à la seule exposition professionnelle. 40 à 50% des personnes sensibilisées au nickel développent par contact répété avec le métal et ses composés, des dermatoses eczématiformes récidivantes (**INRS, 1996**).

L'inhalation de sels de nickel a provoqué des cas d'asthme, associés ou non à des rhinites et des urticaires. Ces pathologies surviennent parfois chez des sujets présentant

un eczéma. Les expositions au nickel ou ses oxydes sont rarement en cause ;on retrouve ces réactions dans le traitement de surface par nickelage électrolytique. Les crises, pouvant apparaitre dans les minutes qui suivent l'exposition ou bien après plusieurs heures, n'ont pas de caractéristiques particulières. Dans certaines opérations, il faut noter l'exposition à d'autres allergène respiratoires comme le chrome ou le cobalt (**INRS, 2008**).

II. Le stress oxydant

II.1. Généralité

Le stress oxydant se définit comme étant un déséquilibre entre la balance des pro-oxydants (substances oxygénées réactives ou ROS) et les systèmes de défense (antioxydants), en faveur des premiers avec comme conséquence l'apparition de dégâts irréversibles pour la cellule (**Favier, 1997; Favier, 2003**).

A concentrations plus élevées, les ROS (dont font partie les radicaux libres) peuvent en effet engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire qui se traduisent par diverses altérations biochimiques intracellulaires telles que l'oxydation de l'ADN et de protéines, la peroxydation des lipides. Cette situation de surproduction d'espèces radicalaires est également associée à de nombreuses pathologies comme le diabète, les cancers, les maladies cardiovasculaires, ou des troubles neurologiques comme la maladie d'Alzheimer ou la maladie de Parkinson. Le stress oxydant se traduit aussi par une modification des concentrations en antioxydants (glutathion, ascorbate, tocophérol), mais surtout du rapport entre forme réduite et oxydée de ces composés (**Poli *et al.*, 2004; Valko *et al.*, 2007**).

II.2. Les radicaux libres biologiques

Un radical libre est une espèce chimique, molécule, morceau de molécule ou simple atome, capable d'avoir une existence indépendante (libre) en contenant un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié sur une orbitale) (**Halliwell, 1996; Halliwell et Gutteridge, 1990 ; Afonso *et al.*, 2007**).

Il peut être formé par la perte ou le gain d'électrons à partir d'un composé non radical. Il peut aussi apparaître au moment de la rupture symétrique d'une liaison covalente après laquelle chaque atome conserve un électron et devient un radical libre. Lorsque cet électron célibataire est situé sur un atome d'oxygène, on parle alors « d'espèces réactives de l'oxygène » (ERO) ou « reactiveoxygenspecies » (ROS) (**Halliwell et Gutteridge, 1989 ; Tessier et Marconnet, 1995**).

La réactivité chimique des radicaux libres de l'oxygène est variable selon la molécule considérée, mais ce sont pour la plupart de puissants oxydants. Les principaux radicaux libres entrant dans les processus physiopathologiques humains sont les radicaux superoxydes et hydroxyles (**Puppo *et al.*, 1988; Goudable et Favier, 1997**). Ce sont des espèces chimiques instables, très réactives, et possèdent un temps de demi-vie extrêmement

court (10-9 - 10-6S). Ces radicaux sont paradoxalement indispensables au maintien de la vie cellulaire et jouent un rôle important dans la lutte contre les infections (**Tessier et Marconnet, 1995**).

II.3. Sources et réactions des ERO

La majorité des radicaux libres rencontrés dans les milieux biologiques sont des formes dérivées de l'oxygène. En effet, de par sa structure chimique particulière, l'oxygène moléculaire, non radicalaire, est à l'origine de la formation de diverses espèces réactives. Les radicaux libres oxygénés les plus souvent impliqués en physiopathologie sont l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}), le radical hydroxyle ($\bullet OH$), le radical peroxyde (ROO^{\bullet}) et le radical alkoxyde (RO^{\bullet}) ainsi que d'autres espèces non radicalaires le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), les hydroperoxydes ($ROOH$) ou encore le nitroperoxyde ($ONOOH$). Ce ne sont pas des radicaux libres mais des dérivés de radicaux libres et ils peuvent en générer par différentes réactions chimiques (**Maiese et al., 2010; Juurlink, 1997 ; Gilgun-Sherki et al., 2001 ; Ré et al., 2005**).

Les ERO et ERN ont plusieurs origines. Elles peuvent être d'origine exogène : produits des radiations (rayons X et lumière UV). Plluants de l'air (N , NO_2), solvants organiques, anesthésiques, pesticides, drogues, xénobiotiques et métaux toxiques (chrome, nickel ou cobalt), etc (**Haliwell et Gutteridge, 1989**). Lorsqu'elles sont d'origine endogène, elles sont produites, en majorité, au niveau des membranes, des organelles (peroxysomes, lysosomes, réticulum endoplasmique, mitochondrie) et du cytoplasme de différents types cellulaires par le biais de divers mécanismes (enzymatique et non enzymatique) (**Nohl, 1994, Sohal et al., 1990 ; Becker et al., 1991**).

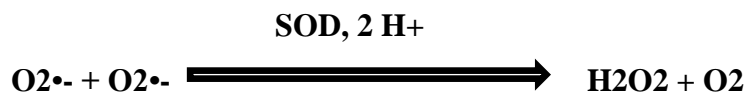
Leur source principale de production est la chaîne respiratoire mitochondriale. En effet, la respiration cellulaire, indispensable à la production d'énergie nécessaire à la survie, s'accompagne d'une production non réductible de radicaux libres. De plus, il a été montré que la membrane mitochondriale a une très faible perméabilité à différentes substances - antioxydantes (**Machlin et Bendich, 1987; Housset, 1990**).

Lors du métabolisme oxydatif, 2 à 5 % de l'oxygène consommé est converti en radical superoxyde. Ceci est dû à des électrons qui s'échappent de la chaîne respiratoire et se fixent directement sur l'oxygène moléculaire (O_2), conduisant à la formation du radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$, au niveau de l'ubiquinone (ou coenzyme Q) selon la réaction :



Celui-ci peut aussi être produit au cours de l'auto-oxydation de certains composés tels que l'hémoglobine, la myoglobine, le cytochrome c réduit, etc. mais aussi de la détoxification des xénobiotiques (toxiques, médicaments) par le système enzymatique des cytochromes P450 présents au niveau du réticulum endoplasmique (**Cadenas et Davies, 2000; Gupta et al., 1997**).

Le radical superoxyde qui présente une certaine toxicité est éliminé ou tout au moins maintenu à un niveau de concentration assez bas par des enzymes appelées superoxydedismutases (SOD) qui catalysent sa disparition par dismutation.



L'eau oxygénée (ou peroxyde d'hydrogène, H₂O₂) ainsi formée n'est pas elle-même un radical libre mais une molécule (ayant tous ses électrons périphériques appariés). Sa production peut également résulter de formation de OH• (**Wardman et al., 1996 ; Cerruti, 1985; Morel et Barouki, 1998**).

Au cours d'un stress oxydatif, c'est-à-dire lors d'un déséquilibre de la balance entre la production de prooxydants et la défense antioxydante de l'organisme, ces ERO peuvent induire des lésions lipidiques, protéiques et de l'ADN. En effet, le H₂O₂ se transforme en radical hydroxyle (OH•) par :

La réaction de Fenton : En présence de métaux de transition tels que le fer et le cuivre. Sous leur forme la moins oxydée (Fe²⁺, Cu⁺) peut, en réagissant avec le peroxyde d'hydrogène(H₂O₂), conduire à la formation du radical hydroxyle (OH•) très agressif pour les structures cellulaires. Le radical OH• est le plus réactive des ERO en particulier, vis-à-vis des lipides membranaires en déclenchant la peroxydation lipidique.



Ou celle de Haber-We



En présence de métaux de transition tels que le fer et le cuivre. Le radical OH• est la plus réactive des ERO en particulier, vis-à-vis des lipides membranaires en déclenchant la peroxydation lipidique (**Haliwell et Gutteridge, 1989; Tessier et Marconnet, 1995; Huet et Duranteau, 2008**).

Le monoxyde d'azote radicalaire ou $\text{NO}\cdot$ est un composé important; il est notamment synthétisé par les cellules endothéliales via l'action de NO synthétases sur la L-arginine. C'est une molécule labile très diffusible, dont les effets régulateurs s'exercent sur la plupart des fonctions physiologiques de l'organisme (maintien du tonus vasculaire, neurotransmission, fonctionnement rénal,...). Toutefois, le $\text{NO}\cdot$ se combine aisément avec l'anion superoxyde $\text{O}_2^{\bullet-}$ pour former le peroxynitrite ONOO^- , agent non radicalaire et un oxydant puissant et diffusible, capable d'endommager de nombreuses molécules organiques (Figure 2) (Hyaden et Tyagi, 2003 ; Hare, 2004 ; Pryor et Squadrito, 1995).

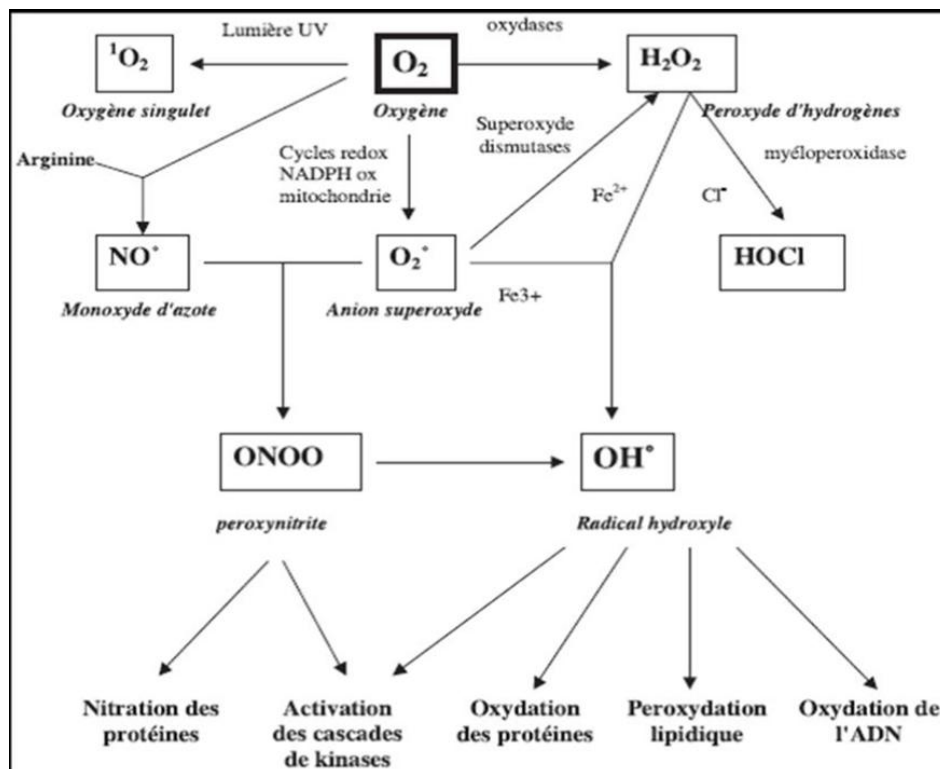


Figure 2: Représente l'origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Favier, 2003)

II.4. Principales cibles biologiques des EOR

Lors d'un stress oxydant, les EOR non « détoxiquées » par le système antioxydant attaquent et endommagent par oxydation les macromolécules directement à leur contact, contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines, l'ADN (Ramonatxo, 2006).

II.4.1. L'acide désoxyribonucléique ou ADN

L'ADN (ADN), qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des EOR. Les radicaux $O_2^{\bullet-}$ et OH^{\bullet} provoquent des lésions de l'ADN (**Ramonatxo, 2006**). Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques. La guanine, par exemple, peut réagir avec OH^{\bullet} pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui, au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine ou entrainer des cassures au niveau de la double hélice d'où le rôle mutagène des ERO (**Haleng et al., 2007; Duranda et al., 2013**).

II.4.2. Les protéines

Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des EOA. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (non-reconnaissance d'un récepteur par un ligand, perte d'activité enzymatique). Certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire. Les plus sensibles à leurs actions sont :

➤ les acides aminés aromatiques comme le tryptophane, la tyrosine et phénylalanine. La phénylalanine et la tyrosine peuvent être oxydées en L-dihydroxyphénylalanine (LDOPA) ou L-trihydroxyphénylalanine (L-TOPA), ces deux produits d'oxydation étant potentiellement des composés mutagènes. L'oxydation de deux tyrosines proches peut aussi conduire à la formation de dityrosine qui lorsqu'elle se forme à partir de deux chaînes peptidiques différentes représente aussi un facteur d'agrégation des protéines. Enfin, le tryptophane peut être oxydé en hydroxytryptophane, dont les métabolites (hydroxyindole et hydroxykinurénine), formés en milieu très oxydant, présentent une activité mutagénique élevée (**Morzel et al., 2006, Hashizume et al., 1991**).

➤ Les acides aminés basiques comme l'arginine, lysine et l'histidine, sur lesquels le radical OH^{\bullet} s'additionne, modifiant la conformation de la protéine (**Dean et al., 1997**).

➤ les acides aminés soufrés tels que la cystéine et la méthionine, l'oxydation par les radicaux libres conduit à la formation de ponts disulfures, donc à l'agrégation de plusieurs molécules de protéines (**Duranda et al., 2013**).

II.4.3. Les lipides membranaires

Le radical hydroxyle est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons des acides gras poly-insaturés (AGPI) : c'est la phase d'initiation. Le radical lipidique réagit avec une molécule d'oxygène pour former un radical peroxyde (ROO•), suffisamment réactif pour arracher un H⁺ à un AGPI voisin, propageant ainsi la réaction (**Atkin et al., 2005**).

Il en résulte une altération de la fluidité membranaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire. Les peroxydes générés seront neutralisés par la glutathion peroxydase ou continueront à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes (malondialdéhyde, 4-hydroxynonéal) dont les activités pro-athérogènes sont bien connues (**Morzel et al., 2006**)

II.4.4. Les lipoprotéines

L'attaque radicalaire des lipoprotéines circulantes aboutit à la formation de LDL oxydées, qui seront captées par des récepteurs spécifiques des macrophages. L'activité de ces récepteurs n'étant pas régulée par la concentration intracellulaire en cholestérol, les macrophages se transforment petit à petit en cellules spumeuses (rôle important dans les premières étapes de l'athérosclérose) (**Nakajima et al., 2006**). En outre, ces LDL oxydées sont immunogènes et les immuns complexes formés peuvent activer la voie classique du complément et générer la sécrétion de cytokines proinflammatoires par les macrophages. (**Saad et al., 2006**).

II.5. Les systèmes de défenses anti-oxydantes

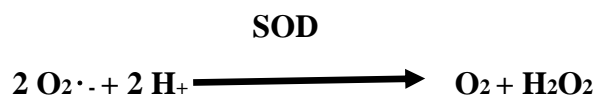
L'organisme dispose de systèmes de protection contre les ERO. Le terme d'antioxydants est utilisé pour caractériser un ensemble de substances ou composés, de nature diverse, dont la caractéristique commune est d'être capable de s'opposer ou de contrôler l'accumulation au niveau cellulaire de radicaux libres. Cette propriété leur permet

d'agir directement ou indirectement en tant que moyen de défense contre le stress oxydatif (Diplock, 1991 ; Chan *et al.*, 1999 ; Herberg *et al.*, 2006).

II.5.1. Les systemes enzymatiques

II.5.1.1. Superoxydesdismutases (SODs)

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion super-oxyde $O_2^{\bullet-}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène selon la formule suivante:



Elles permettent d'éliminer les radicaux superoxydes mais provoquent l'apparition de peroxyde d'hydrogène diffusible et dangereux à distance (Nelson *et al.*, 1994). L'activité des SOD doit être couplée à une activité suffisante de la catalase ou de la glutathion peroxydase (GPx), sinon il s'en suivra une production nette d' H_2O_2 qui, en présence de métaux de transition, pourra donner naissance au puissant oxydant qu'est le radical hydroxyle et pour lequel il n'y a aucun mécanisme de détoxification enzymatique (Chan, 2001 ; Nelson *et al.*, 1994 ; Ré *et al.*, 2005).

Chez l'homme, trois isoformes compartimentées de l'enzyme SOD ont été caractérisées de façon biochimique et moléculaire. Elles qui contiennent soit du manganèse (Mn-SOD), soit du cuivre et du zinc (Cu/Zn-SOD), et qui sont restreintes à des compartiments cellulaires différents.

- ✓ La SOD1 ou Cu/Zn-SOD, est cytosolique;
- ✓ La SOD2 ou Mn-SOD est mitochondriale;
- ✓ La SOD3, comporte du cuivre et du zinc, est extracellulaire et est donc aussi appelée EC-SOD (Johnson et Giulivi, 2005; Matsumoto et Fridovich, 2001; McCord et Edeas, 2005).

II.5.1.2. Les catalases

Ce sont des enzymes présentes dans un grand nombre de tissus mais elles sont essentiellement localisées dans les hématies et les peroxysomes. Elles réduisent le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ en libérant de l'oxygène et de l'eau comme suit :

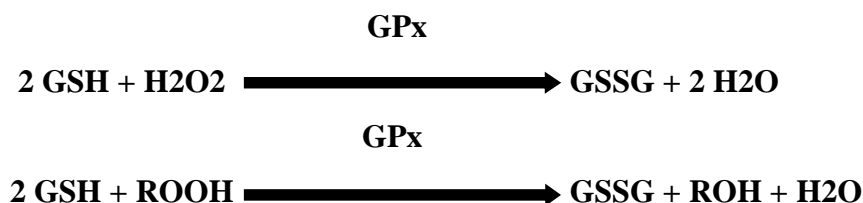


Leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier (**Lindau-Sehpard et Shaffer, 1993; Kang *et al.*, 1996 ; Mates *et al.*, 1999**).

II.5.1. 3. Glutathion peroxydases

Les glutathion peroxydases (GPx) sont des enzymes tétramériques dont chaque unité possède un atome de sélénium dans son site actif sous la forme de sélélocystéine. Ce qui est essentiel pour l'activité enzymatique. Toutes les enzymes GPx sont connus pour ajouter deux électrons pour réduire les peroxydes d'hydrogène H₂O₂ et les hydroperoxydes lipidiques en formant selenoles (Se-OH) (**Vitoux *et al.*, 1996; José *et al.*, 1999**).

Le rôle des glutathions peroxydases (GSH-Px) est très important dans la plupart des tissus où elles réalisent la quasi-totalité de l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés. Pour leur fonctionnement, elles utilisent le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur sur lequel elles transfèrent l'oxygène, le transformant en glutathion oxydé (GSSG). Protégeant ainsi les cellules de mammifères contre les dommages oxydatifs. En fait, le métabolisme du glutathion est l'un des mécanismes les plus essentiels de défense anti-oxydante (**Esterbauer *et al.*, 1992; Escobar *et al.*, 1996**).



Il existe cinq isoformes de GPX trouvés chez les mammifères. Les niveaux de chaque isoforme varient en fonction du type de tissu.

- ✓ cGPX ou GPX1 : Cytosolique et mitochondriale ;
- ✓ GPx-2 (gastro-intestinale) ;
- ✓ GPX3 extracellulaire ou plasmatique ;
- ✓ GPx-4 (cytosolique, mitochondriale et membranaire ;
- ✓ GPX5, exprimé spécifiquement dans l'épididyme (**De Haan et al., 1998; José et al., 1999**).

II.5.1.4. Glutathion S-Transférases

Les glutathion transférases sont des enzymes séléno-indépendantes qui participent à la détoxification des radicaux libres d'un grand nombre de composés électrophiles (médicaments, agents cancérigènes,...). Cette addition permet leur métabolisation puis leur excrétion (**Valko et al., 2006**).

Il existe d'autres enzymes présentent une activité anti-oxydante importante comme :

- ✓ la glutathion réductase utilise le NADPH pour régénérer le GSH à partir du GSSG.
- ✓ les peroxyredoxines (Prx) qui réduisent un grand nombre de molécules comme l'H₂O₂ et utilisent la thioredoxine (Trx) comme réducteur.
- ✓ la thiorédoxine réductase (TrxR) qui intervient dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène, ainsi que dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique.
- ✓ l'oxydase hémique (HO) est une protéine impliquée dans la dégradation de l'hème prostétique. Les métabolites dérivés de l'hème peuvent constituer des produits ayant une fonction antioxydante, anti-inflammatoire, de signalisation ou anti-apoptotique (Figure 3) (**Stocker et al., 1987 ; Ryter et Tyrell, 2000**).

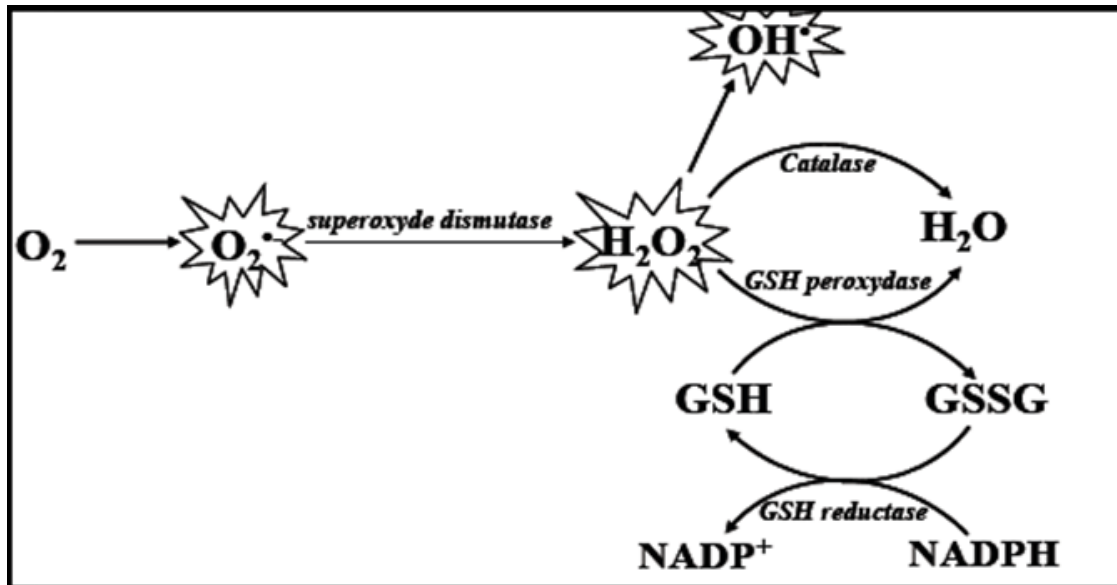


Figure 3: Représente le schéma des défenses antioxydantes enzymatiques (Halliwell et Gutteridge, 2007)

II.5.2. Les défenses non-enzymatiques

Il s'agit en général, de petites molécules qui présentent des propriétés de type « substrat suicide » qui peuvent être, ou non, métaboliquement réparées ou recyclées. Ces molécules opèrent comme bouclier antioxydant en devenant elles-mêmes radicalaires, et protègent les acides nucléiques, les protéines et les lipides (Haleng *et al.*, 2007).

II.5.2.1 Le glutathion

Le GSH est le thiol non protéique (L- γ -glutamyl-L-cystéinyglycine), le plus abondant dans les cellules des mammifères où il est présent sous forme essentiellement réduite (GSH) (Sies, 1999 ; Pompella *et al.*, 2003). C'est un antioxydant intracellulaire multifonctionnel. Il possède plusieurs fonctions importantes pour la viabilité cellulaire (Pastore *et al.*, 2003 ; Ji *et al.*, 1999).

Le GSH possède plusieurs fonctions importantes pour la viabilité cellulaire. Il interagissant :

- ✓ Soit, directement avec différents ROS (radical hydroxyle, superoxyde, NO...) en piégeant les radicaux libre pour former le disulfure par oxydation :



- ✓ Soit, en tant que réducteur des hydroperoxydes lipidiques (ROOH) comme un cosubstrat de la GPx. L'oxydation du GSH conduit à la formation du glutathion oxydé (GSSG). Sa régénération fait intervenir la GSSG réductase et nécessite du NADPH (produit grâce à la glucose 6-phosphate déshydrogénase de la voie des pentoses phosphate) (Haleng *et al.*, 2007 ; Valko *et al.*, 2006).

Il fait l'objet d'interactions synergiques avec d'autres composants du système de protection antioxydante tels que la vitamine C ou la vitamine E. c'est aussi un régulateur de l'apoptose et permet d'empêcher l'oxydation des groupements thiols des protéines, contribuant ainsi au maintien du potentiel redox de la cellule et donc au maintien de bon nombre de processus de signalisation, de la prolifération cellulaire, et un partenaire dans les réactions de détoxification des xénobiotiques auxquels il est conjugué par la GSH S-transférase. Il est également impliqué dans la synthèse des désoxyribonucléiques. Dans les cellules eucaryotes, le GSH est présent majoritairement dans le cytosol (90%) mais aussi dans les mitochondries (Deneke et Fanburg, 1989 ; Pastore *et al.*, 2003).

Enfin, dans des conditions physiologiques, sa forme oxydée (GSSG) est en concentration très faible. Le rapport GSH/GSSG est un indicateur de l'équilibre redox dans la cellule et il est considéré comme un excellent marqueur de la peroxydation lipidique et permet d'objectiver l'importance du stress (Jones *et al.*, 2000 ; Stamler et Slivka, 1996; Beck, 1997).

II.5.2.2. La vitamine C

L'acide ascorbique se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire; C'est un excellent piègeur de ROS à spectre large, efficace contre les radicaux peroxydes, hydroxyle et superoxyde ainsi que contre le peroxinitrite. Bien que l'ascorbate soit hydrosoluble, il est capable de régénérer la vitamine E, ce qui permet de déplacer les ROS de la membrane vers le cytosol et de prévenir la peroxydation lipidique. Les formes oxydées de l'ascorbate, le semidéhydroascorbate et le déhydroascorbate, peuvent être régénérées par le GSH ou par d'autres thiols intracellulaires (Rice., 2000 ; Kojo., 2004; Valko *et al.*, 2007).

II.5.2.3. La vitamine E

Ce terme désigne un ensemble d'isomères, les tocophérols (constitués d'un noyau chromanol et d'une chaîne latérale saturée à 16 atomes de carbone) et les tocotriénols (qui

diffèrent des tocots par la présence de 3 doubles liaisons sur cette chaîne latérale). D'un point de vue biologique, l' α -Tocophérol est l'isomère majoritaire de la famille tocophérols ainsi que la forme la plus active de la vitamine E. son caractère hydrophobe lui permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où il joue un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxydes (ROO•) pour former un hydroperoxyde (LOOH) ou un hydroxyde (LOH) lipidique ainsi qu'un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique (**Haleng et al., 2007; Burton et Ingold, 1989 ; Pryor, 2000**)

II.5.2.3. Les oligoéléments

Les oligo-éléments ont deux fonctions principales : un rôle clé dans le métabolisme intermédiaire comme cofacteurs ou coenzymes, et un rôle de neutralisation des radicaux libres. Il existe dix oligo-éléments ou éléments traces (ET) sont considérés comme essentiels chez l'être humain. Parmi eux le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx de sélénium (**Shenkin, 1993; Neve, 1992**).

III.1. Définition et structure de la vitamine E

Les vitamines sont par définition des micronutriments qui ne sont pas synthétisés par l'organisme humain et doivent être apportés dans l'alimentation. Les vitamines sont séparées en deux classes : les hydrosolubles et les liposolubles, dont l'absorption intestinale suit celle des graisses, c'est-à-dire nécessite les acides biliaires et une fonction pancréatique satisfaisante (**Salle *et al.*, 2005**).

La vitamine E, appelée aussi α -tocophérol est l'antioxydant majeur des milieux lipidiques (huiles, membranes biologiques, lipoprotéines) (**Leger, 2000**), et qui correspond à une famille de huit molécules est bien connue pour son pouvoir antioxydant et son caractère indispensable à la fertilité. α -tocophérol est la forme la plus active de la vitamine E chez les humains et est un antioxydant biologique puissant qui est considéré comme le principal antioxydant stabilisateur des lipides membranaires (**Valko *et al.*, 2006**).

Le terme générique vitamine E regroupe deux grands groupes de molécules : les tocophérols et les tocotrienols, comprenant chacun différentes formes moléculaires : des vitamères alpha, beta, gamma et delta (α , β , γ et δ) dépend du nombre et de la position des groupements méthyles sur le cycle aromatique (**Jensen et Lauridsen, 2007 ; Aggarwal *et al.*, 2010 ; Brigelius-Flohe, 2009**). Leurs structures chimiques se composent d'un cycle chromanol mono-, di-, ou tri méthyle auquel est rattachée une chaîne latérale à 16 atomes de carbone. (Figure 4). Cette chaîne permet de définir les deux grandes familles :

- ✓ les tocophérols présentent une chaîne latérale saturée.
- ✓ les tocotrienols avec une chaîne latérale présentant trois insaturations.

Parmi les quatre tocophérols, l' α -tocophérol est la forme de vitamine E la plus présente dans l'organisme, est l'antioxydant liposoluble majeur qui protège les membranes et les lipides de la peroxydation lipidique en neutralisant les radicaux peroxyde, alkyle et alcoxyde ($\text{ROO}\cdot$). Il est aussi l'unité de mesure pour les apports nutritionnels recommandés et la teneur en vitamine E des aliments (**Herrera et Barbas, 2001**).

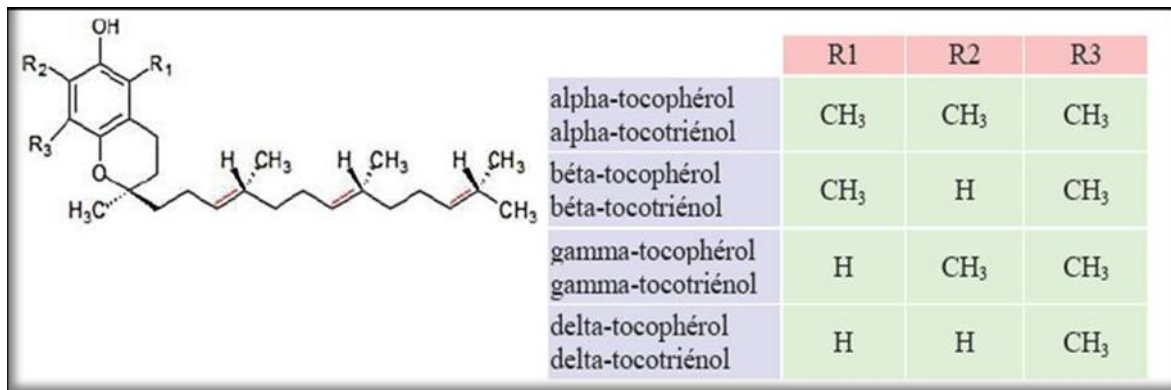


Figure 4: Représente la structure chimique de la Vitamine E. Les doubles liaisons indiquées en rouge ne sont pas présentes dans les tocophérols (**Hoppe et Krennrich, 2000**)

III.2. Les sources de vitamine E

Dans notre alimentation, les céréales (germes de blé 22 mg de vitamine E pour 100 g d'aliment) et les huiles végétales (30-100 mg de vitamine E pour 100 g d'aliment) comme l'huile de tournesol ou l'huile d'olive, constituent la source majeure de vitamine E. On la retrouve aussi dans les fruits secs (noisettes et amandes sèches), les légumes verts, le beurre et la margarine (10-80 mg de vitamine E pour 100g d'aliment) ainsi que les poissons gras parmi lesquels on peut citer le thon, le saumon etc. (**Jiang et al., 2001 ; Desmettre T et al., 2004**).

Les apports nutritionnels en vitamine E sont variables en fonction de l'âge et de l'état physiologique. Ainsi les besoins des adultes sont estimés à 12 mg par jour tandis que chez les enfants, ils sont compris entre 4 et 11 mg.

III.3. Métabolisme, absorption, distribution et excrétion

La première phase du processus de digestion-absorption est la dissolution des vitamines liposolubles, et d'une façon générale des micronutriments liposolubles, dans la phase lipidique du repas. Cette phase est ensuite émulsifiée en gouttelettes lipidiques au niveau stomacal puis duodéнал. Il ne semble par ailleurs exister aucun métabolisme de ces vitamines au niveau de l'estomac (**Borel, 2003 ; Borel et al., 2001**).

Dans la suite du processus de digestion, les vitamines lipophiles se retrouvent incorporées, avec les autres composants lipidiques, dans des micelles mixtes, de cette façon la vitamine E est absorbée de 55-79 %, depuis la lumière intestinale par un processus de diffusion passive à travers l'entérocyte en même temps que les lipides alimentaires

(Reboul, 2011). Par ailleurs, il est admis que la vitamine E est incorporée sous forme libre dans les chylomicrons. Ce processus implique la MTP (microsomal triglycerides transfert protein) (Anwar *et al.*, 2007).

La vitamine E restant dans les chylomicrons résiduels, c'est-à-dire celle qui n'a pas été échangée avec d'autres lipoprotéines ou distribuée aux tissus périphériques lors de la lipolyse par les lipases endothéliales, est captée par le foie. L' α -tocophérol est incorporée dans les verylowdensitylipoprotein (VLDL), selon un mécanisme non élucidé, ce qui va permettre sa distribution aux tissus périphériques. Cette incorporation met en jeu l' α -tocopheroltransfertprotein (α - TTP), qui possède une stéréospécificité forte pour le RRR- α -tocophérol, ce qui explique la prépondérance de ce vitamère dans le plasma (Traber, 2007).

En plus La protéine du transfert plasmatique des phospholipides (PLTP), qui est connue pour favoriser l'échange de phospholipides et d'autres composés amphiphiles entre les structures lipidiques, facilite l'échange du α -tocophérol entre les High-densitylipoproteins (HDL) et les Low-densitylipoproteins (LDL) voir figure 5 (Desrumaux *et al.*, 1999).

La vitamine E connaît 2 voies d'excrétion : une excrétion urinaire pour les métabolites résultant de l'action antioxydante du α -tocophérol et ceux qui proviennent d'une voie d'excrétion non oxydative. L'excrétion fécale est majeure pour la vitamine E ingérée (Traber et Kayden, 1989).

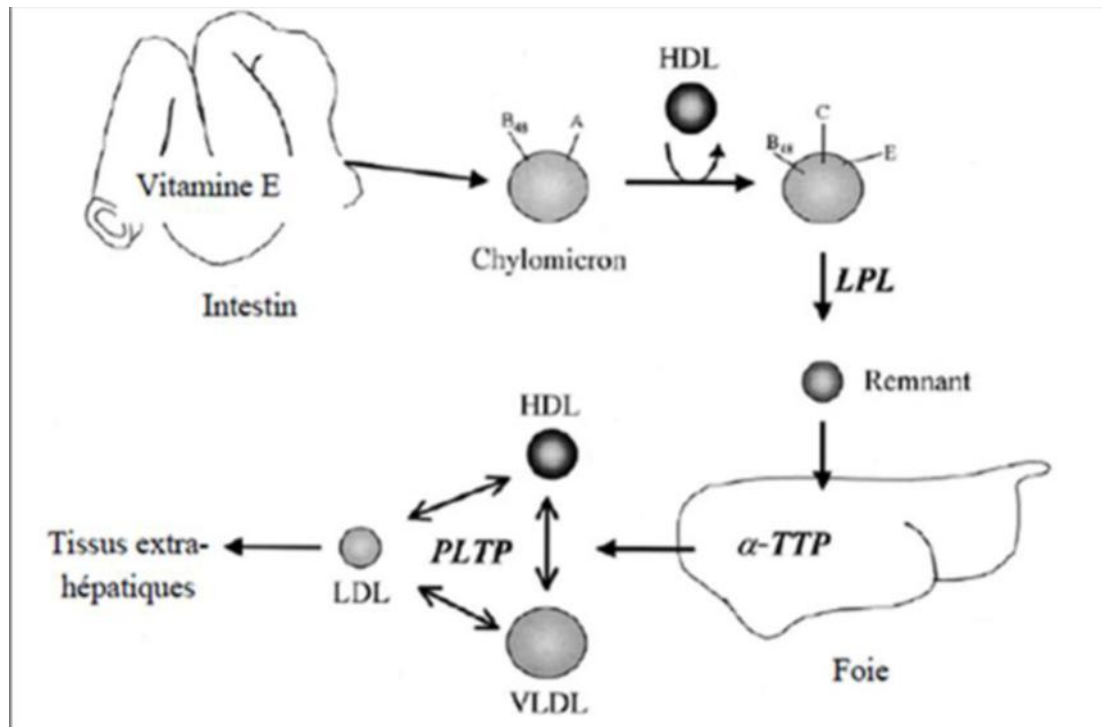


Figure 5: Représente le mécanisme d'absorption, transport, distribution de la vitamine E d'après Azzi et stocker, 2000

III.4. Rôles biologiques de la vitamine E

La vitamine E est l'antioxydant liposoluble majeur des lipides. Elle protège *in vivo* les structures moléculaires particulièrement sensibles à l'oxydation (doubles liaisons des acides gras polyinsaturés) et les structures condensées riches en lipides (membranes, lipoprotéines) (Léger, 1992). Elle protège également de l'oxydation les bases nucléotidiques des brins d'ADN et des protéines (Duthie *et al.*, 1996).

Les lipides membranaires sont particulièrement sensibles aux radicaux oxygénés (effet polaire). Leur réaction avec l'oxygène génère des radicaux peroxyalkyles instables qui évoluent pour fournir des aldéhydes ou des cétones susceptibles d'altérer les molécules d'ADN et les protéines. De nombreux phénomènes inflammatoires ont pour origine des réactions en chaîne induites par des radicaux libres oxygénés.

Les constituants de la vitamine E sont aptes à céder de façon efficace leur atome d'hydrogène phénolique aux radicaux hydroxyles (OH•) ou peroxydes (ROO•). Ce transfert d'atome ne réduit bien sûr pas la concentration en radicaux libres puisqu'il se forme un radical aryloxy (tocophéryloxy). La durée de vie du radical tocophéryloxy est de l'ordre de la

seconde. (Figure 6). Il peut donc se coupler avec un autre radical (par exemple alkylperoxy) et conduire ainsi à la formation de peroxydes qui peuvent être éliminés : il y a rupture de la chaîne d'autoxydation (disparition de radicaux) ; une particularité des radicaux tocophéryles par rapport à des radicaux oxygénés plus simples est leur relative inertie chimique vis-à-vis d'une liaison C-H ce qui bloque la chaîne d'autoxydation afin de stabiliser les membranes cellulaires (Burkitt, 2001).

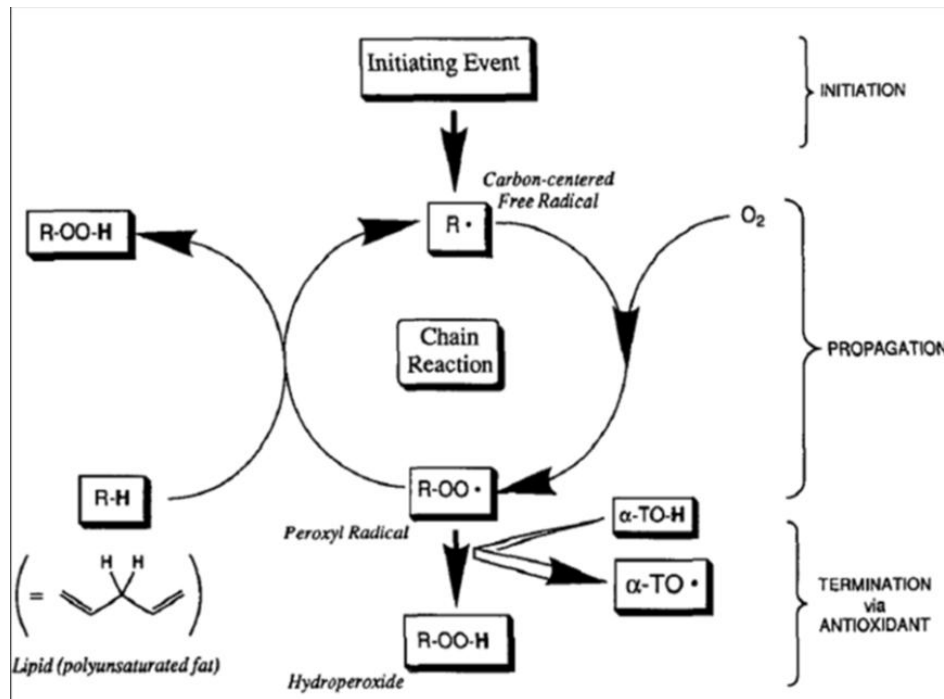


Figure 6: Représente l'effet de la vitamine E au niveau des trois phases de la peroxydation lipidique (Burton, 1990)

Ce rôle essentiel lui confère le pouvoir de stabilisateur de membrane et donc de protection des membranes cellulaires (myocarde, système nerveux), des globules rouges, de l'endothélium vasculaire, de la peau et des acides gras essentiels. Elle protège également la membrane des spermatozoïdes (Van Acker *et al.*, 1993).

Des études animales ont montré des effets bénéfiques de suppléments de vitamine E, tels que modulation de la réponse immunitaire, diminution de la peroxydation des lipides, réduction de la mortalité chez la souris brûlée infectée (Kuroiwa *et al.*, 1991 ; Peck et Alexander, 1991; Lennon *et al.*, 1993), diminution de l'accumulation intrapulmonaire de leucocytes et augmentation de la synthèse hépatique de protéines en réponse à l'injection d'endotoxine (Grimble, 1993).

IV. Cystéine

IV.1. Généralité

La cystéine est un acide aminé naturel présent dans la plupart des protéines. Cette molécule est riche en soufre, ce qui la rend très importante pour la bonne structure des protéines (ponts disulfure). Il est l'un de 20 acides aminés standard exigés par des êtres humains et est unique parmi eux dans cela, il contient un groupe de thiol fonctionnel. La cystéine est souvent impliquée dans des réactions de transfert d'électron (**Pravina Piste et al., 2013**). Il est également essentiel pour la fabrication intracellulaire du glutathion dans l'organisme (**Pravina Piste et al., 2013**).

Selon un détaillant de produits de santé, la cystéine est l'un des plus efficaces antioxydants dans l'organisme et entre dans le métabolisme de détoxification des déchets toxiques qui peuvent accélérer le vieillissement. Il est aussi naturellement produit dans les aliments contenant du soufre tels que les jaunes d'œufs, poivrons rouges, ail, oignons, brocoli et les choux de Bruxelles, Il est valu par nature, Il peut aider à prévenir la perte de cheveux et stimuler sa croissance et largement utilisé dans l'industrie alimentaire. Aussi à des applications dans d'autres industries y compris les produits pharmaceutiques et cosmétiques. Il est efficace pour prévenir les secondaires effets de l'alcool comme une gueule de bois, il empêche des lésions cérébrales et de foie, ainsi il réduit également les dommages de poumon tels que l'emphysème, résultant de fumeurs..

IV.2. Devenir dans l'organisme

La cystéine alimentaire est absorbée sous forme réduite, ainsi que sous la forme de di- et tripeptides contenant de la cystéine. La captation de cystine par les anthérocytes s'effectue par le biais du système qui catalyse l'échange entre un acide aminé neutre intracellulaire et un acide aminé cationique ou une molécule de cystine (**palacin et al., 2001**). L'efflux vers le milieu intérieur se fait principalement sous la forme de cystéine, grâce aux systèmes ASC et L, et de glutathion (**Dumas et al., 2007**).

La cystéine est utilisée pour la synthèse des protéines ainsi qu'en tant que précurseur de composés non protéiques essentiels à l'organisme par l'intermédiaire de trois voies métaboliques.

- ✓ La première est son oxydation en cystéine sulfinatée, catalysée par la cystéine dioxygénase (CDO), une enzyme exprimée presque exclusivement dans le foie (**Haesler et al., 1994**).
- ✓ La cystéinesulfinatée peut ensuite être convertie en taurine par décarboxylation et oxydation, ou bien en β -sulfinopyruvate par l'aspartateaminotransférase, voie qui aboutit à la formation de sulfate (**Stipanuk, 2004b**).
- ✓ la cystéine peut également être condensée avec du glutamate par la γ -GCS, pour former la γ -glutamylcystéine, puis en glutathion sous l'action de la glutathion synthase (**Dumas et al., 2007**).

Les enzymes-clés de ces voies métaboliques sont régulées en réponse aux variations du besoin intracellulaire en cystéine et ses métabolites, et de l'apport alimentaire en cystéine et/ou en acides aminés soufrés. Les variations de régulation de la GCL et de la CDO déterminent le flux de cystéine entre la voie de catabolisme irréversible et la voie de synthèse du glutathion. La prédominance de la synthèse de glutathion au détriment de la taurine dans les conditions de faible disponibilité en cystéine suggère une compétition entre ces deux voies, favorable à la GCL (**Bella et al., 1999; Stipanuk, 2004**).

IV.3. Biosynthèse de la l-cystéine

La cystéine peut être synthétisée de novo par sulfhydratation directe ou par transsulfuration à partir de l'homocystéine. Chez les bactéries, les moisissures et les plantes, deux enzymes catalysent l'étape finale de biosynthèse de la cystéine. D'abord, la sérine est activée en O-acétylsérine (OAS) par la sérine acétyltransférase qui catalyse la condensation de la sérine avec le groupe acétyle de l'acétyl-CoA. Puis, l'O-acétylsérine sulfhydrilase (cystéine synthase), enzyme dépendante du pyridoxal, catalyse le transfert de l' H_2S à l'OAS dans une réaction de β -remplacement, ce qui aboutit à la formation de cystéine et d'acétate (**Sekowska et al., 2000 ; Soda, 1987**). Une autre enzyme, la cystathionine β -synthase (sérine sulfhydrilase, E.C. 4.2.1.22) peut catalyser in vitro la formation de cystéine à partir de la sérine et de l' H_2S , mais son importance métabolique dans l'assimilation du soufre inorganique n'a pas été tout à fait démontrée (**Soda, 1987**). D'autre part, chez les levures et certaines bactéries, l' H_2S est plutôt incorporé dans l'homocystéine. Pour cela, l'O-acétylhomosérine (OAH) est d'abord formé par activation de l'homosérine avec une molécule d'acétyl-CoA, réaction catalysée par l'homosérine O-acétyltransférase (E.C. 2.3.1.31). L'homocystéine est ensuite formée par

réaction de l'OAH avec l'H₂S, réaction catalysée par l'O-acétylhomosérinesulfhydrylase (E.C. 2.5.1.49) (Thomas et Surdin-Kerjan, 1997). Une fois formée, l'homocystéine peut être utilisée pour la biosynthèse de la cystéine par la voie de transsulfuration. Le nom de trans-sulfuration a été donné à l'origine chez les mammifères aux deux réactions assurant le transfert du soufre de l'homocystéine à la cystéine via la cystathionine.

La synthèse de la cystéine à partir de l'homocystéine comporte deux étapes. La première réaction, catalysée par la cystathionine β -synthase (E.C. 4.2.1.22), assure la formation de cystathionine par β -addition de sérine à l'homocystéine. La deuxième réaction est la γ -élimination de la cystathionine, catalysée par la cystathionine γ -lyase (CGL, E.C. 4.4.1.1), en produisant la cystéine, l'acide 2-oxobutyrique et de l'ammonium (Thomas et Surdin-Kerjan, 1997). La cystéine est alors disponible pour être incorporée dans les divers métabolites soufrés ou dans les protéines (Figure 7) (Hesse *et al.*, 2004).

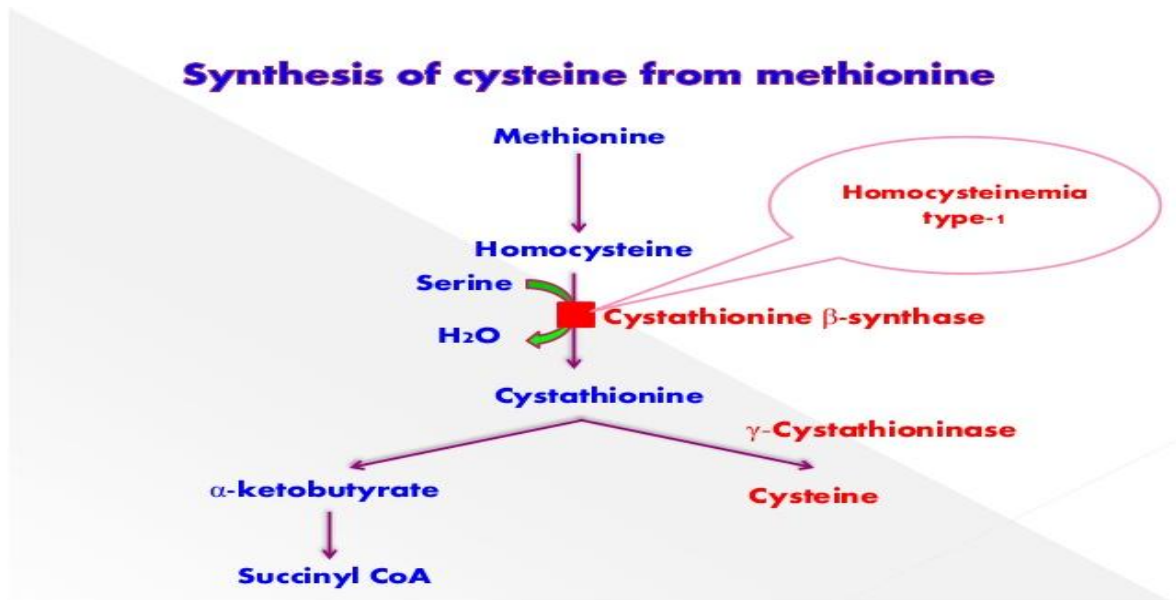


Figure 7: la biosynthèse de cystéine à partir de méthionine

IV.4.Catabolisme de la l-cystéine

La L-cystéine est un acide aminé avec un groupe thiol en C-3. Ce groupe thiol possède un pK_a de 8,2, ce qui la rend très nucléophile et lui confère une grande réactivité. De ce fait, la L-cystéine peut participer à une série complexe de réactions métaboliques et chimiques, en plus de son incorporation dans la plupart des protéines et le glutathion. Les produits du catabolisme de la L-cystéine sont l'ammoniaque, le pyruvate et le sulfure d'hydrogène ou H₂S, principalement. C'est à cause de la production de ce dernier que la

dégradation de la Lcystéineest appelée globalement activité désulfhydrase. Cette activité a été identifiée aussi bien chez les mammifères (**Kamoun, 2004**) .

De part sa nature d'acide aminé, la cystéine peut être dégradée par des enzymes de même spécificité réactionnelle que celles impliquées dans le catabolisme d'autres acides aminés. Ainsi, il est possible d'établir une correspondance avec le catabolisme de la Lméthionine.

De façon similaire à la méthionine, la cystéine peut être dégradée par des réactions en une ou deux étapes. La réaction en une seule étape implique l'action de lyases telles que les cystathionine β et γ lyases (CBL, CGL), la méthionine γ -lyase (MGL), et la tryptophanase ; l'utilisation de l'une ou de l'autre de ces lyases est une caractéristique dépendante de la souche. Toutefois, aucune de ces lyases n'est spécifique pour la cystéine. Ainsi, chez *E. coli*, l'activité désulfhydrase est attribuée à la CBL et à la tryptophanase, même si cette dernière catalyse principalement la dégradation du tryptophane en indol, pyruvate et ammoniacque (**Awano et al., 2005**).

D'autre part, la voie de transamination de la cystéine aboutit à la formation de l'acide 3-mercaptopyruvique (mercaptopyruvate). Cette voie catabolique a été largement étudiée chez l'homme en raison des problèmes de santé déclenchés par l'H₂S produit et les thiols libres (**Cooper, 1983 ; WHO, 1981**). Le mercaptopyruvate est plus labile et réactif que la L-cystéine de départ ; en solution il peut subir rapidement plusieurs réactions chimiques ou enzymatiques. En effet, en plus de pouvoir suivre un transamination réversible vers la cystéine, le mercaptopyruvate peut rapidement perdre le groupe thiol en libérant l'H₂S et le pyruvate. Il forme aussi des disulfures simples avec une autre molécule de mercaptopyruvate, ou mixtes avec la L-cystéine ou d'autres thiols.

Mise à part la dégradation enzymatique de la L-cystéine, celle-ci peut être dégradée par diverses réactions chimiques. Les meilleurs exemples de ces réactions sont la réaction de Streckeret la réaction de Maillard.

Issus de cette dernière, de nombreux produits soufrés sont obtenus par traitement thermique des denréesalimentaires (**Yoo et al., 1998 ; Schieberle et Engel, 2002 ; van Boekel, 2006**). Par laréaction de Strecker, le mercaptoaldéhyde, l'H₂S et des composés de type thiazole peuventêtre produits (**Hwang et al., 1997 ; Belitz et Grosch, 1999**).

La L-cystéine peut participer à des réactions d'oxydo-réduction grâce à son groupe thiol libre. La L-cystéine est facilement auto-oxydée en cystine par la formation d'une liaison disulfure entre deux cystéines même en conditions oxydative douce. Cette capacité à

former des ponts disulfure la rend d'une part responsable de la structure tertiaire de certaines protéines et d'autre part capable de participer dans les cellules au contrôle des niveaux d'oxydoréduction (**Cooper, 1983**). Il est bien établi que l'oxydation de la L-cystéine est augmentée à pH basique ou lorsque les conditions d'oxydation sont fortes, par exemple en présence de peroxyde (H₂O₂) ou de radicaux libres (**Carlsson et al., 1979**).

Ainsi, l'acide cystéine sulfinique (R-SO₂H), l'acide cystéique (R-SO₃H) et l'acide β-sylfinyl pyruvique (R-SO₂H, dérivé du mercaptopyruvate) sont quelques exemples de produits d'oxydation de la L-cystéine ou du mercaptopyruvate par réaction avec l'oxygène.

Ces composés restent pourtant aussi réactifs que la L-cystéine et sont dégradés par voie enzymatique ou chimique avec la libération de sulfite (SO₃²⁻) ou de sulfate (SO₄²⁻) et de pyruvate (**Kertesz, 1999**). Ces mécanismes constituent également les principales voies d'élimination du soufre chez les mammifères (**Cooper, 1983 ; Leinweber et Monty, 1987 ; Griffith, 1987**).

Matériel et méthodes

1. Matériel biologique et conditions d'élevage

Nous avons utilisé 36 rats blancs mâles de la souche *Wistar*, provenant de l'institut pasteur d'Alger. Agés de 8-9 semaines, pesants entre 150 -200 gr à leur arrivée. Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation de 15 jours , à une température de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}$ et une photopériode naturelle.

Les rats sont regroupés par 6 dans des cages en polyéthylène tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois et d'un biberon d'eau. Les cages ont été nettoyées et la litière changée tous les jours jusqu'à la fin de l'expérimentation. Ils ont été nourris avec un concentré énergétiquement équilibré et un libre accès à l'eau.

2. Méthodologies

2.1. Protocole expérimental

Les rats males sont répartie en 6 groupes de 6 rats chacun. Les traitements ont été effectués comme suite :

- ✓ Lot témoin qui reçoit le sérum physiologique **ip** (0,9% NaCl) durant la période du traitement.
- ✓ Lot traités par la vitamine E sous forme de α -tocophérol à raison de 100 mg/kg de poids corporels (**Pari et Prasath, 2008**).
- ✓ Lot traité par l-cystéine hydraté à une dose de 100 mg /Kg pc (**Gaitonde, 1997**).
- ✓ Lot traité au nickel sous forme de sulfate de nickel hexa hydraté $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (sigma. Produits chimiques. St Louis. MO) à raison de 20 mg / Kg ip (**Borders et Papillian, 1983**) dans le sérum physiologique.
- ✓ Lot traité à la même dose de sulfate de nickel (20 mg /Kg) avec l'administration par voie orale du vitamine E à une dose de 100 mg/Kg pc.
- ✓ Lot traité à la même dose de sulfate de nickel (20 mg /Kg) avec l'administration par voie orale du l-cystéine hydraté à une dose de 100 mg /Kg pc.

2.2. Préparation des prélèvements

Les prélèvements sanguins ont été faits après décapitation rapide dans le 22^{ème} jours, le sang artério-veineux a été recueilli, sur des tubes :

- d'EDTA, pour le dosage des paramètres hématologiques (ont été utilisés pour déterminer la formule de numération sanguine (FNS).
- d'héparine, qui subit une centrifugation de 3000 tours /minute, pendant 15 minutes.

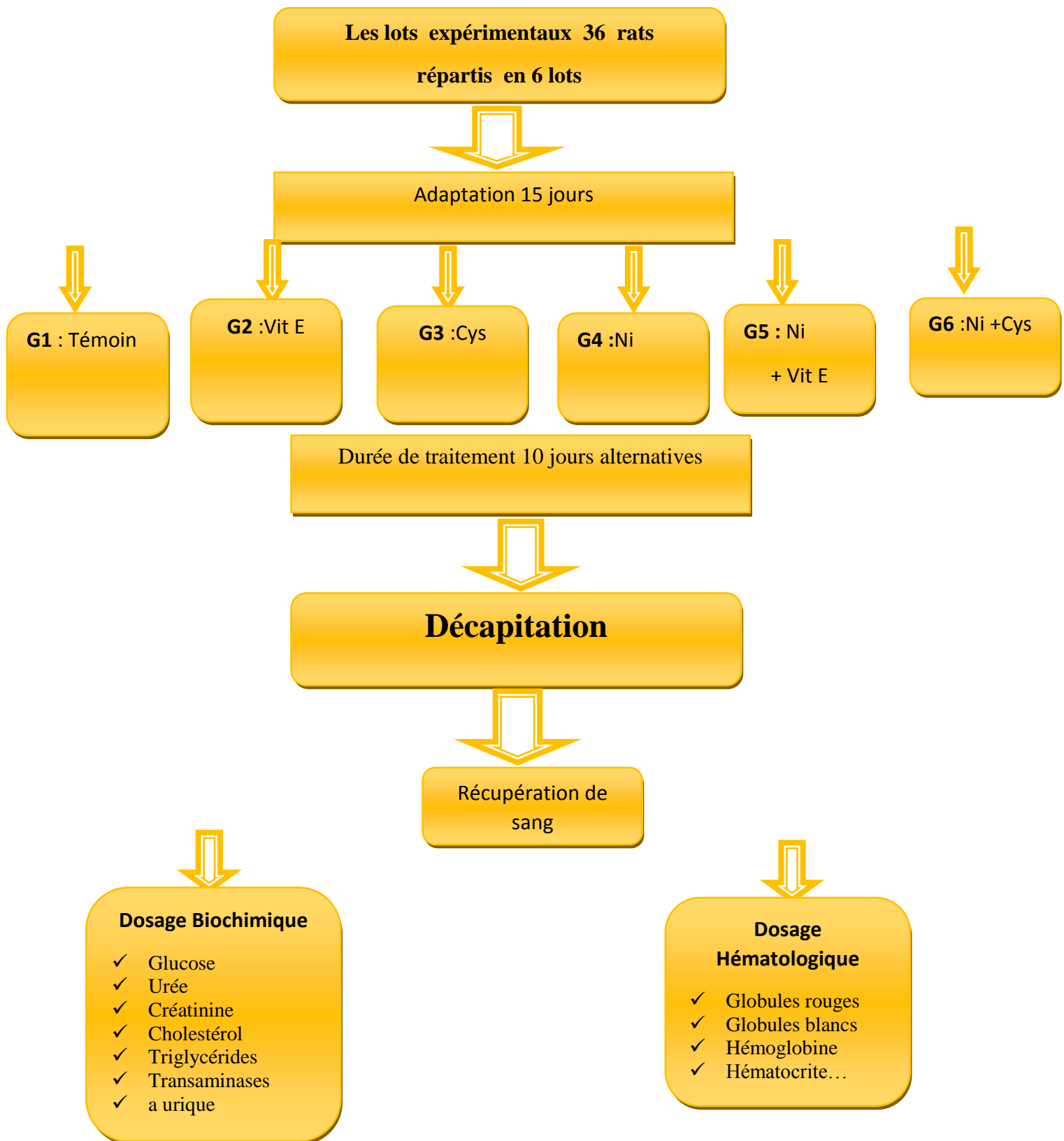


Figure 8 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental

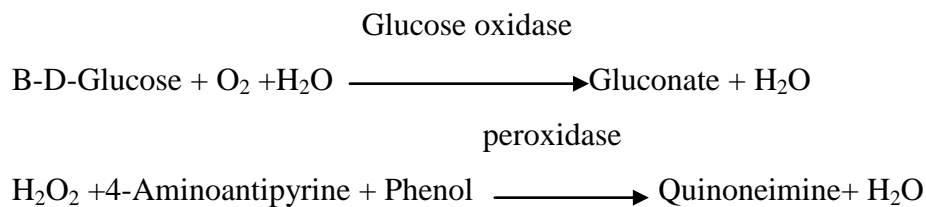
2.3. Dosage des paramètres biochimiques

2.3.1. Dosage de glucose

La détermination de la glycémie a été réalisée par la méthode enzymatique à la glucose oxydase selon la fiche technique (Spinreact) (**kaplon, 1984**).

• Principe

Le glucose est transformé par la glucose oxydase (GOD) en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Ce dernier, en présence de peroxydase (POD), oxyde le chromogène incolore (4-aminophénazone) en un composé coloré en rouge-violet (quinoneimine) (**Kaplan, 1984 ; Trinder, 1996**), selon les réactions suivantes :



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

•Echantillon : Sérum

•Réactifs utilisés

Les réactifs	Composition	Concentration
R1 tampon	Tris pH 7.4 Phénol	92 m mol/l 0.3 m mol/l. .
R2 enzymes	Glucose oxydase (GOD) Peroxydase (POD) 4-Aminophenazon (4-AP)	15000 U/ l. 1000 U/l. 2.6 m mol/l.
Glucose calibrant	Glucose aqueux (standard)	100 mg/dl.

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

- Dissoudre le contenu de réactif 2 dans le flacon de réactif 1.
- Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable 4 mois à 2-8 C° , ou 40 jour à 15-25 C° .

Mode opératoire

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (ml) .	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	-	1.0	-
Echantillon (µl)	-	-	1.0

Mélanger, incubé pendant 10 min à 37 C, ou 15-20 min à une température ambiante. Lire les absorbances des échantillons et de l'étalon contre le blanc réactif à 500 nm. La coloration finale est stable au moins 30 minutes.

● **Calcul de la concentration**

La concentration du glucose est calculée par la formule suivante :

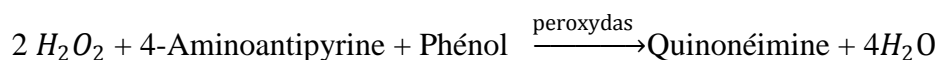
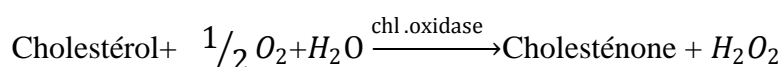
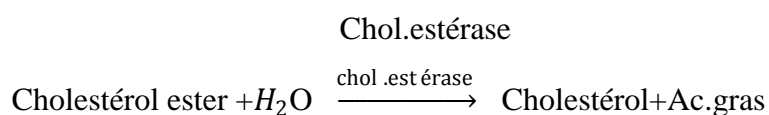
$$\text{Glucose (mg /dl)} = \frac{\text{(A)échantillon}}{\text{(A)étalon}} \cdot 100$$

2.3.2. Dosage du cholestérol

• Principe

La méthode est celle décrite par Trinder, 1969. Le cholestérol et ses ester, sont libérés à partir lipoprotéines par les détergents. Le cholestérol estérase hydrolyse les esters. Le H₂O₂ est formé dans la réaction d'oxydation enzymatique du cholestérol sous l'action du cholestérol oxydase. Ce dernier réagit avec le phénol pour produire le quinonimine.

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



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

• Echantillon : Sérum

• Réactifs

Les réactifs	Composition	Concentration
R1 tampon	Pipes pH 6,9 phénol	90 m mol/L 26 m mol/L
R2 enzymes	Cholestérol estérase (CHE) Cholestérol oxydase (CHOD) Peroxydase (POD) 4- aminophenasone (4-AP)	300 U/L 300 U/L 1250 U/L 0.4 m mol/L
Cholestérol calibrant	Etalon de cholestérol aqueux primaire	200mg/dL

• **Mode opératoire**

	Blanc	Etalon	Echantillon
Etalon de cholestérol (S)	–	10 µl	–
Echantillon	–	–	10 µl
Réactif (A)	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml

- Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37°C, ou 10min à la température de 25°C.
- Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 500 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 60min.

• **Calcul**

La concentration en cholestérol de l'échantillon est calculée selon la formule suivante :

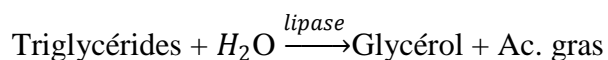
$$\frac{(A)_{\text{échantillon}}}{(A)_{\text{Etalon}}} \times C_{\text{Etalon}} = C_{\text{Echantillon}}$$

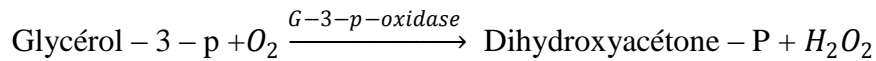
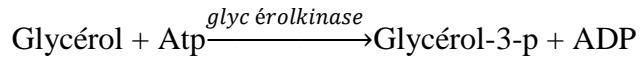
Facteur de conversion : mg/dL x 0,0258 = mmol/L.

2.3.3. Dosage des triglycérides : (Kaplou, 1984). Selon la fiche technique Spinreact

• **Principe**

La méthode utilisée est celle décrite par Tietz, 1990. Les triglycérides sont déterminés après une hydrolyse enzymatique par les lipases. L'indicateur est un quinoneimine formé à partir du peroxyde d'hydrogène, du 4-aminophénazone et du 4-chlorophénol sous l'influence catalytique de la peroxydase. Les triglycérides présents dans l'échantillon sous la forme d'un complexe coloré selon la réaction suivante :





● **Réactifs**

Les réactifs	Composition	Concentration
R1 tampon	GOOD pH 7,5 p-chlorophénol	50 m mol/L 2 m mol/L
R2 enzyme	Lipoprotéin lipase (LPL) Glycérol kinase(GK) Glycérol-3-oxidase(GPO) Peroxydase(POD) 4-aminophénazone(4-AP) ATP	150000 U/L 500 U/L 2500 U/L 440 U/L 0,1 m mol/L 0,1 m mol/L
Triglycérides cal	Etalon de triglycéride aqueux primaire	200 mg/dl
R4 Etalon	Etalon de l'urée aqueux primaire	50 mg /dl

● **Echantillons : Sérum**

● **Mode opératoire**

	Blanc	Etalon	Echantillon
Etalon de Triglycérides (S)	–	10 µl	–
Echantillon	–	–	10 µl
Réactif (A)	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

- Agiter bien et incuber pendant 5min à 37°C, ou 10 min à la température de 25°C.
- Lire l'absorbance (A) de l'échantillon à 500 nm et de l'étalon contre le blanc, la Couleur est stable après 30 min.

• **Calculs**

La concentration en triglycérides de l'échantillon est calculée selon la formule suivante :

$$\frac{A_{\text{Echantillon}}}{A_{\text{Etalon}}} \times C_{\text{Etalon}} = C_{\text{Echantillon}}$$

La concentration de l'étalon = 200 mg/dl

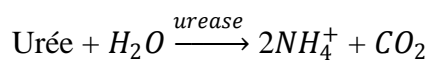
Facteur de conversion : mg/dl 0,025= m mol/l.

2.3.4. Dosage de l'urée

Le dosage de l'urée a été réalisé par la méthode cinétique enzymatique à l'uréase (Kit Spinréact).

• **Principe**

L'urée présente dans l'échantillon donne, selon les réactions décrites ci-dessous, un indophénol coloré quantifiable par spectrophotométrie



● **Réactifs**

Les réactifs	Composition	Concentration
R1 tampon	Phosphate Salicylate de sodium Nitroprusside de sodium	20 m mol/l 62 m mol/l 3,4 m mol/l
R2 NaClO	Hypochlorite sodium Hydroxyde de sodium	150 m mol/l
R3 Enzymes	Uréase	500 U/l
R4 Etalon	Etalon de l'urée aqueux primaire	50 g/dl

● **Echantillon : Sérum**

● **Mode opératoire**

	Blanc	Etalon	Echantillon
Etalon urée (S)	-	10 ul	-
Echantillon	-	-	10 ul

- Bien agiter et incuber les tubes pendant 10 minutes à température ambiante (16-25 °C) ou pendant 5 minutes à 37 °C
- Lire l'absorbance (A) de l'Etalon et de l'Echantillon face au Blanc à 600 nm. La couleur est stable au moins 2 heures.

● **Calculs**

La concentration en urée de l'échantillon est calculée selon la formule suivante :

$$\frac{A_{Echantillon}}{A_{Etalon}} \times C_{Etalon} \times \text{Facteur de dilution échantillon} = C_{Echantillon}$$

La concentration de l'étalon = 50mg/dl

2.3.5. Dosage de la créatinine :(Murry et al ., 1984)

La détermination de la créatinine a été réalisée par la méthode cinétique colorimétrique selon la fiche technique (Spinréact).

- **Principe**

L'essai est basé sur la réaction de la créatinine avec acide picrique : c'est la réaction de JAFFE. La créatinine réagit avec le picrate alcalin pour donner un complexe coloré, mesuré dans un intervalle de temps défini et proportionnel à la concentration en créatinine de l'échantillon (Murray, 1984).

- **Echantillon : Sérum**

- **Réactifs**

Les réactifs	Composition	Concentration
R1	Acide picrique	17,5 mol/l
R2	Hydroxyde de sodium	0,29 mol/l
Créatinine calibrant	Etalon de la créatinine aqueux primaire (standard)	2 mg/dl

- **Préparation et stabilité**

Les réactifs sont prêts à l'emploi, stable à température ambiante.

Réactif du travail : mélanger à parts égales R1 et R2.

Stabilité : 10 jours à 15-25 °C

- **Mode opératoire**

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	-	100	-
Echantillon (µl)	-	-	100

- Mélanger et lire la densité optique DO1 après 30 sec, à 492 nm.
- Lire ensuite DO2 exactement 1 minute après.
- **Calcul** : Calculer $\Delta Do = DO2 - DO1$ pour le standard et les échantillons.

$$\text{Concentration de la créatinine (mg / dl)} = \frac{\Delta DO_{\text{échantillon}}}{\Delta DO_{\text{standard}}} \times 2$$

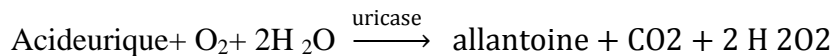
La concentration de l'étalon = 2 mg/dl

Facteur de conversion : mg/dl = μ mol/l

2.3.6. Dosage de l'acideurique : (Schultz *et al.*, 1984). Selon la fiche technique Spinreact

- **Principe**

L'acideurique présent dans l'échantillon donne selon la réaction décrite ci-dessous un complexe coloré, quantifiable par spectrophotométrie :



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

- **Echantillon** : Sérum
- **Réactifs utilisés**

Les réactifs	Composition	Concentration
R ₁ tampon	Phosphate pH7.4	50m mol/l
	2-4 Dichlorophenolsulphonate (DCPS)	4 m mol/l
R ₂ enzymes	Uricase	60 U/l
	Peroxydase (POD)	660 U/l
	Ascorbate oxidase	200 U/l
	4- Amino antipyrine (4-AP)	1 m mol/l
R ₃ Etalon	Etalon de l'acideurique aqueux primaire	6 mg/dl

- **Préparation de réactif de travail (RT)**

- Dissoudre le contenu de R₂ dans la fiole de R₁.
- Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable 1 mois à 2-8°C, ou 10 jours à 15-25°C.

- **Mode opératoire**

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	...	25	...
Echantillon (µl)	25

- Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37°C, ou 10 min à 15-25 minutes.
- Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 520 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 30 min.

- **Calcul**

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

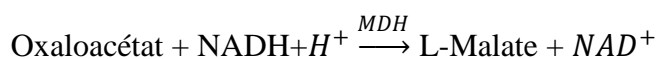
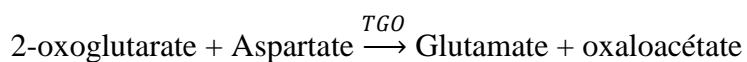
La concentration de l'étalon = 6 mg/dl

Facteur de conversion : mg/dl × 59.5 = m mol/l

2.3.8. Dosage de TGO : (Bergmyer, 1980). Selon la fiche technique Biomagreb.

- **Principe**

Détermination cinétique de l'activité Aspartate aminotransferase. Le schéma réactionnel est le suivant :



Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité Aspartateaminotransferase dans l'échantillon.

- **Echantillon**
- **Réactifs**

Les réactifs	Composition	Concentration
R1 solution tampon	Tampon Tris Ph 7,8 à 30 °C L-Aspartate	80 m mol/l 200 m mol/l
R2 substrat et enzymes	NADH LDH MDH Oxoglutarate	0,18 m mol/l 800 U/l 600 U/l 12 mol/l

- **Préparation de réactifs et stabilité**

- Dissoudre le contenu de R2 dans la fiole de R1
- Agiter bien doucement jusqu'à elle devient homogène.

- **Mode opératoire**

Solution de travail	3 ml
Préincuber à la température	37 °C
Echantillon	50 µl

- Mélanger et incuber les tubes préparés 1 minute à 37 °C. Mesurer la diminution de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minute à 340 nm.

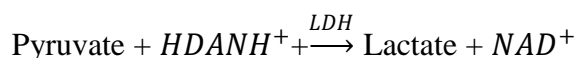
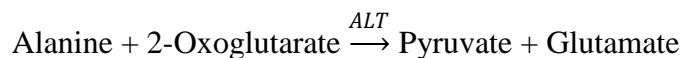
- **Calcule**

Activité (ASAT/TGO) U/l = $\Delta DO \times 1750$

2.3.9. Dosage de TGP : Selon la fiche technique BioSystems

- **Principe**

L'alanine-aminotransférase (ALT ou GPT) catalyse le transfert du groupement amino de l'alanine au 2-oxoglutarate, en formant le pyruvate et le glutamate. La concentration catalytique est déterminée en utilisant la réaction couplée de la lactate-déshydrogénase (LDH), à partir de la vitesse de la disparition du NADH, mesuré à 340 nm.



- **Réactifs**

Les réactifs	Composition	Concentration
R1 solution tampon	Tampon Tris Ph 7,3 à 30 °C	150 m mol/l
	Alanine	750 m mol/l

- **Préparations des réactifs**

Réactif de travail : vider le contenu d'un flacon de réactif B dans un flacon de réactif A. Homogénéiser. D'autres volumes peuvent être préparés dans les proportions :
 4 ml Réactif A + 1 ml Réactif B. Le Réactif de travail est stable 2 mois à 2-8 °C.
 Réactif de travail avec phosphate de Pyridoxal : Mélangez dans la proportion : 10 ml de Réactif de Travail + 0,1 ml de réactif C (code 11666). Stable 6 jours à 2-8 °C.

- **Echantillon : Sérum**

- **Mode opératoire**

Température de réaction	37 °C	30 °C
Réactif de travail	1.0 ml	1.0 ml
Echantillon	50 µl	100 µl

- Mélangez et insérez – la dans le porte – cuve thermostaté. Mettre le chronomètre en marche.
- Au bout de 1 minutes, notez l’absorbance initiale et effectuez de nouvelles lectures chaque minute pendant 3 minutes.
- Calculez l’accroissement moyen d’absorbance par minute ($\Delta A/\text{min}$).

● **Calculs**

La concentration en ALT/GPT de l’échantillon est calculée selon la formule suivante :

$$\Delta A / \times \frac{V_t \times 10^6}{\epsilon \times l \times v_s} = U/L$$

Le coefficient d’extinction moléculaire (ϵ) du NADH à 340 nm est de 6300, Le trajet optique (l) de 1 cm, le volume réactionnel total (V_t) est 1.05 à 37 °C et 1.1 à 30 °C, le volume d’échantillon (V_s) de 0.05 à 37 °C et 0.1 à 30 °C, 1 U/l équivalent à 0.0166 ukat, on en déduit les facteurs suivants pour calculer la concentration catalytique.

	37 °C	30 °C
$\Delta A / \text{min}$	× 3333 = U/l × 55.55 = ukat/l	× 1746 = U/l × 29,1 = ukat/l

2.4. Evaluation de la toxicité hématologique

La toxicité hématologique à été mise en évidence à travers la détermination de la formule numérique (FNS) à l’aide d’un couler automatique (**couler, Counter T 540**) : est un analyseur sanguin automatisé pour échantillon de sang entier.

Les paramètres mesurés selon le principe de couler sont : Les globules et blancs. La teneur moyen d’hémoglobine, la teneur moyen en hématocrite, le volume globulaire moyen en hématocrite (CCMH), la teneur globulaire moyen en hématocrite (TGMH).

2.5. Analyse statistique des données

L'analyse statistique des données a été effectuée au logiciel MINITAB (Min, Ver. 13.31). Une analyse de la variance à un critère de classification ANOVA et une comparaison des moyennes par le test t de Student ont été effectuées p 0.05 est considéré comme significatif.

Discussion

Dans nos conditions expérimentales, nous avons remarqué un déficit pondéral chez les rats traités au nickel par rapport aux témoins. Ceci est en accord avec les constatations de Dostal *et al.*, 1989 ; Cempel et Janicka, 2002.. Ce déficit pondéral peut s'expliquer par l'action du nickel sur le transport des éléments nutritifs (les acides aminés, le glucose et les minéraux essentiels comme le zinc, le magnésium, le fer...) par le sang et par conséquent, ils peuvent induire une mauvaise assimilation des aliments par le corps. Rajkumar et Govindarajulu, 1991 ; Vats *et al.*, 2004 ont signalé que la baisse du gain de poids corporel peut être dû à la dégradation augmentée de lipides et de protéines par suite de toxicité du nickel.

En revanche, cette baisse du gain de poids corporel est moins importante chez les lots traités à la combinaison Ni/Cyset Ni/Vit E et Vitamine E seule par rapport au lot de témoin. Une action protectrice semblable des acides aminés soufrés à améliorer le poids corporel des animaux traités dans une autre étude de Goon Kim *et al.*, 2003 et de salman *et al.*, 2013 concernent l'effet de cystéine contre l'inflammation et stress oxydatif, aussi est due à l'effet protecteur de la vitamine E contre la toxicité des métaux lourds (Jotty *et al.*, 2009; Soudani *et al.*, 2011).

Nos résultats révèlent une augmentation significative de taux du glucose sérique chez les rats traités au nickel en comparaison avec les rats témoins. L'augmentation de la glycémie résulte probablement de l'effet inhibiteur de nickel sur la libération d'insuline par le pancréas ou des effets directs sur le pancréas (Mathur et Tandon, 1979). il bloque l'utilisation du glucose par les cellules et mène à la présence d'une concentration élevée d'insuline (Eva et Sunderman, 1975 ; Sunderman *et al.*, 1976 ; Gisela *et al.*, 1981). Des études ont également suggéré que le nickel peut provoquer une hyperglucagonémie qui semble être responsable d'une hyperglycémie (Sanjay *et al.*, 2000). Nos résultats sont en accord avec les résultats antérieurs de Faure *et al.*, 2009.

Tandis que, la diminution des taux sériques en glucose vers le niveau de contrôle a été remarqué chez les rats administrés par la cystéine seule, la vitamine E seul et Ni+Vit E ;

la vitamine E peut neutraliser les ROS avant qu'ils ne causent des dommages (**Bansal et al., 2005**). ainsi que la supplémentation de la vitamine E pourrait modifier les récepteurs d'insuline des tissus musculaires et adipeux par l'augmentation de la perméabilité de la membrane a fin d'améliorer l'absorption du glucose (**Bierenbaum et al., 1985 ; Moorthi et al., 2006**).

Nous avons constaté une augmentation de la concentration sérique des triglycérides et de cholestérol chez les rats traités au nickel par rapport aux témoins. Des études similaires ont été observés chez les rats traités avec du sulfate de nickel (20 mg / kg de poids corporel, ip) (**Das et al., 2006 ; Hfaiedh et al., 2008**). Ils ont trouvé que le traitement au nickel a entraîné des perturbations du métabolisme lipidique qui se manifeste par une augmentation des taux sériques de cholestérol et de triglycérides.

Ces résultats peuvent être expliqué aussi par la dégradation intense des composés lipidiques des tissus lipidiques pour assure l'énergie nécessaire aux fonctions vitale de l'organisme, avec diminution de l'absorption d'acides gras par le tissu adipeux (**Gupta et al., 2008**).

Par contre, le traitement avec le Nickel associé au Vitamine E ou Vit E seul a relativement améliorée le profil lipidique chez le lot traité par le nickel, ces résultats sont en accord avec les d'autres études (**Bansal et al., 2005; Lehr et al., 1999**). Entre autre la vitamine E est un antioxydant important qui diminue la peroxydation des lipides insaturés par radicaux libres; Il contribue ainsi à la stabilité des membranes cellulaires. Il existe des interactions entre les groupes méthyles du tocophérol (vitamine E) et de la double liaison cis des acides gras insaturés à créer une stabilité dans les phospholipides de la membrane cellulaire (**Gupta et al., 2008; Lieber, 1993**).

Chez les rats traités au nickel associé au Cys on note une augmentation de TG qui est accord avec les travaux de **N.Jacob et al., 1999**. Cette augmentation peut s'expliquer par la dégradation intense des composés lipidiques des tissus adipeux pour assurer l'énergie nécessaire aux fonctions vitales de l'organisme. Ce qui est accompagné par une forte action lipolytique de lipase en présence de l'hormone de glucagon. Ces résultats ont été confirmés dans les travaux de **sckade et al., 1990**.

Notre étude sur la fonction rénale à montrer une augmentation des taux sériques en l'urée, en créatinine et en acide urique chez les rats traités par le nickel, est considéré comme un biomarqueur de la dysfonction rénale et les dommages rénaux provoqué par le nickel (**Prasad et al., 1995, Novelli et al., 1998**). Le niveau accru des marqueurs rénaux après un traitement au nickel reflète son interaction avec la membrane cellulaire, conduisant à modifiée la perméabilité de ces membranes (**Prasad et al., 2006**). Ce qui témoigne de l'installation d'une insuffisance rénale transitoire, avec baisse de la filtration glomérulaire. Sur le plan clinique, la néphropathie tubulo-interstitielle chronique est diagnostiquée par l'augmentation de l'urée et/ou de la créatinine sanguines (**Couréges et al., 1998**) expliqué par l'augmentation du catabolisme protéique, puisque ces dernières peuvent être dégradées en acides aminés puis en urée et créatinine en présence de certains facteurs. En accord avec nos résultats, **El Feki (1984), Stengel (1996), Jegou (1996) et Smaoui et al., 2000**).

Le nickel influence sur l'activité de l'ADN et l'ARN polymérase, il provoque ainsi la dégradation intense du matériel génétique, ce qui conduit au catabolisme des bases pyrimidiques (**Das et Das, 2004**) et enfin la libération de l'acide urique, l'un des antioxydants hydrosolubles endogènes majeurs de l'organisme (**Delattre et al., 2005**). Ce qui explique l'augmentation de la concentration sérique en acide urique chez le lot traité par le sulfate de nickel.

L'administration de la vitamine E chez les lots traités par le nickel par voie intrapéritonéale protège la fonction rénale de l'intoxication du nickel, comme il est indiqué par une restauration significative de l'urée plasmatique, de la créatinine ainsi que de l'acide urique. Des études récentes ont montré que la vitamine E est un agent de protection efficace pour les reins car il augmente les processus de défense cellulaire vis-à-vis les effets cytotoxiques du stress oxydant induit par le nickel et réduit la production des radicaux libres (**Al-Attar, 2011**).

Toutefois chez les rats traité au Ni associé au Cystéine on note une diminution significatif par rapport au groupe traité au Ni, cette résultats est en accord avec les travaux de (**D.Nandi et al., 2005**) qui montre un nombre moins d'altération de l'architecture rénale après un traitement par Cys .

Pour l'activité enzymatique, les deux enzymes TGO, TGP sont spécifique et ont été considéré comme indicateurs de viabilités cellulaire et de perméabilité de membrane cellulaire (**Dasgupta et al., 1996 ; Ahmed et al., 1999**)

nos résultats ont montré une augmentation plus élevée de l'activité des transaminases (GOT et GPT) dans le sérum des rats traités au nickel, probablement en raison des dommages membranaire sur les hépatocytes, entraînant une augmentation de la libération et la fuite de ces enzymes du cytosol du foie dans le sang qui donne une indication sur l'effet hépatotoxique de ce métal (Navarro *et al.*, 1993 ; Pari et Prasath, 2008 ; Gama et Eatmad, 2011). Ces résultats sont en accord avec Chen CY *et al.*, 1998, Novelli, 1998, Tekeli *et al.*, 2004. Les perturbations biochimiques semblent être en corrélation avec l'altération histologique du foie comme la présence de débris cellulaires dans une veine centrale et une vacuolisation cytoplasmique. (Novelli *et al.*, 1998).

Il a été signalé que l'exposition subchronique par voie orale du nickel entraîne de multiples nécroses au niveau du foie associés à des changements de l'ultra structure et des altérations hépatiques (Tandon *et al.*, 1984 ; Mickel *et al.*, 1985 ; Vyskocil *et al.*, 1993 ; Iscan *et al.*, 2002).

Chez les rats traités au Ni associés au Cystéine, la concentration de TGO et TGP est proche des témoins que celle des rats traités au Ni associée au Vitamine E. La L-cystéine est l'un des biothiols les plus bien connus, et lui est utilisée dans la synthèse de diverses molécules importantes de signalisation comprenant le glutathion (GSH) et sulfure d'hydrogène (Sushil K. Jain, 2013). Les résultats sont en accord avec les travaux de Horie *et al* (2003), qui a utilisé de la cystéine pour empêcher la fibrose de foie et limiter la prolifération cellulaire et l'activation radiées hépatiques.

D'autre part, la vitamine est bien connue par leur capacité d'inhiber le processus oxydatif des lipides et des lipoprotéines au niveau des membranes cellulaires, ce qui assure la stabiliser des membranes cellulaires hépatiques et de protéger les hépatocytes contre les effets toxiques du nickel qui permet ainsi de diminuer la fuite des enzymes dans la circulation sanguine (McPherson, 1994 ; Soudani *et al.*, 2011).

L'hémato-toxicité se manifeste par une diminution des globules rouges, des globules blancs, de taux d'hémoglobine, chez les rats traités au nickel par rapport aux témoins, nos résultats sont confirmés par le travail de Kusal *et al.*, 2006 qui ont étudié l'effet protectrice de l'acide L-ascorbique dans le système de défense antioxydant dans les érythrocytes des rats exposés au

nickel. On a enregistré aussi une augmentation de taux de l'hématocrite chez les rats traités au Ni par apport aux témoins, même résultats trouvés dans l'étude de **Jerry et al., 2008** et aussi même résultat dans l'étude des **Ajrout, et Mouffok, 2008**.

Les composés de Ni sont su pour exposé à des activités de surface différentielle qui résultent en capacité tout à fait déficiente d'induire l'hémolyse des érythrocytes humains (**IARC, 1984 ; Stohs et Bagchi, 1995**) selon d'autres travaux la toxicité du Ni a une action négative sur l'érythropoïèse puisqu'elle entraîne une diminution de la production d'hématie ce qui déclenche des anémies sévères résulte de l'inhibition de l'activité de nombreuses enzymes. En effet le chlorure de nickel réduit l'activité de peroxydase glutathion dans la moelle osseuse et dans le sérum chez les rats (**Chang et al., 1999**). Ceci peut être expliquée par le fait que ce métal Ni inhibe la synthèse de l'hémoglobine (**Leach, 1985**).

Les composés de nickel influent sur la bicouche lipidique de la membrane des érythrocytes, ainsi que les protéines de la membrane à des degrés divers en fonction du type de composés utilisés (**Tkeshelashvili et al., 1989; Vest et al., 2004**).

En revanche, on a enregistré une augmentation bien claire des globules blancs chez les rats traités au nickel ou à la Ni/Vit E et Ni/Cys par rapport au témoin. Cette augmentation explique que l'administration de cystéine a atténué l'hépatotoxicité induite par le Ni l'effet confirmé par **Refaat et al., 2013**. Ceci est dû au rôle exercé par la synergie de la vitamine E dans la régulation de l'expression des cytokines pour le bon fonctionnement des cellules du système immunitaire. Donc, il semble que la vitamine E agit comme antioxydant et diminue l'effet toxique, qui suggère que ces antioxydants ont un impact sur les indices biologiques associés à la toxicité du sulfate de nickel.

Cette augmentation constatée dans nos résultats, explique que l'animale mobilise toutes ces capacités de défense (notamment les leucocytes) pour lutter contre les infections causées par la présence des xénobiotiques dans son organisme (**Srivastava et Narain, 1985; Wataha et al., 2002**). Ce qui confirme la présence d'une amélioration du système immunitaire contre l'infection qui pourrait avoir été causée par les toxiques.

une augmentation des Hb chez les rats traités au nickel associée ou Cys et Vitamine E plus augmentée que celle de groupe témoin ce résultat est d'accord avec les résultats des **Emrah et al., 2007** contre la toxicité de plomb.

Conclusion et perspectives

La présente étude a évalué l'effet protecteur du Cystéine et de la vitamine E contre la toxicité induite par le sulfate de nickel. Les résultats de cette étude démontrent, d'une part, que l'administration du sulfate de nickel a provoqué des perturbations des paramètres biochimiques, hématologique qui prouve l'effet cytotoxique de nickel. D'autre part, le traitement par Cys et la Vit E permettant de confirmer leurs pouvoirs antioxydants et protectives contre la formation permanente des radicaux libres générés par le nickel.

les résultats obtenus nous ont permis de tirer les conclusions suivantes :

- L'administration de sulfate de nickel chez les rats, a engendré :

- Des perturbations au niveau de la croissance générale des rats : Diminution du poids corporel durant la période de traitement.
- Des perturbations du métabolisme biochimique plasmatique, le nickel a induit hyperglycémie, une augmentation de la concentration sérique du cholestérol, des triglycérides, lipides totaux de l'urée, de la créatinine, de l'acide urique,
- Des perturbations au niveau de certains paramètres métaboliques biomarqueurs de l'activité hépatique : Augmentation de l'activité enzymatique des transaminases (ASAT et ALAT).
- Une perturbation des paramètres plasmatiques de la néphrotoxicité (urée et créatinine)
- La toxicité du sulfate de nickel sur la fonction hématologique a été reflétée par une chute du nombre de globules rouges (GR), du taux de l'hémoglobine (Hb), du taux de l'hématocrite (HC) ainsi que des valeurs du VGM témoignant de l'installation d'une anémie.

- La supplémentation en cystéine ou vitamine E chez des rats traités au nickel, a provoqué :

- Une amélioration au niveau de la croissance générale des rats
- Une correction des taux plasmatiques en glucose, en bilirubine, en triglycérides et en cholestérol total ;

- Une correction des taux plasmatiques en créatinine et en urée ;
- Une réduction de l'activité des biomarqueurs de la cytolyse et de l'état inflammatoire (ASAT et ALAT)
- il semble que la cystéine et la vitamine E protège l'érythropoïèse contre les effets cytotoxiques de nickel.

Ainsi, des suppléments en cystéine /ou en vitamine E permettent de limiter les perturbations provoquées par le nickel. Ces suppléments semblent avoir des effets bénéfiques, par une limitation des phénomènes radicalaires et une réparation des dommages oxydants, ceci est expliqué par leur pouvoir antioxydant qui conduit donc à contracter l'état du stress oxydant.

En perspectives

Il s'avère intéressant d'approfondir ces conclusions par :

- ✓ L'exploration de l'effet du nickel sur les paramètres de stress oxydatif ;
- ✓ Déterminer la concentration en nickel au niveau des organes cibles notamment dans les organes de détoxification ;
- ✓ Etudier les mécanismes cellulaires et moléculaires des effets protecteurs de cys et de la vitamine E contre la cytotoxicité induite par le nickel ;
- ✓ L'exploration des métallothionéines ainsi que les protéines stress : les heatshock proteins (HSP) ;
- ✓ Etudier enfin, l'effet protecteur des antioxydants naturels contre la toxicité induite par le nickel chez le rat ou d'autres modèles expérimentaux.

Résultats

1. Variation de gain du poids corporel

Tableau II: Variation de gain du poids corporel chez le lot témoin (T) et les différents lots traités au nickel, Vit E, Cys, et a la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E						
Paramètres	Les lots expérimentaux					
	témoin	Vit E	Cys	Ni	Ni+vit E	Ni+ Cys
Poids corporel initial (g)	87,2	95,2	142,82	149,8	143,4	145,8
Poids corporel final (g)	135	157,2	192,6	160	172	173,25
gain du poids corporel	30,5±7,79	62±11,63 ^{2b}	49,78±09,18 ^{2b}	10,2±9,03 ^{2a}	28,6±6,19	27,45±07,85 ^b

^a: Différence par rapport au témoin ^b: Différence par rapport au groupe Ni ^{a1 b1} : Différence significative (p<0,05). ^{a2 b2}: Différence hautement significative (p<0,01) ^{a3 b3} : Différence très hautement significative (p<0,001)

Nos résultats montrent des changements dans le gain des poids corporel des animaux soumis à différents traitements (Tab II, Fig 9). On note une diminution hautement significative du gain du poids corporel chez les rats traités au nickel par rapport aux témoins. De plus, Le gain du poids corporel augmente chez les lots traités à la combinaison Ni+Cys et Ni+VitE par rapport au lot traité au nickel.

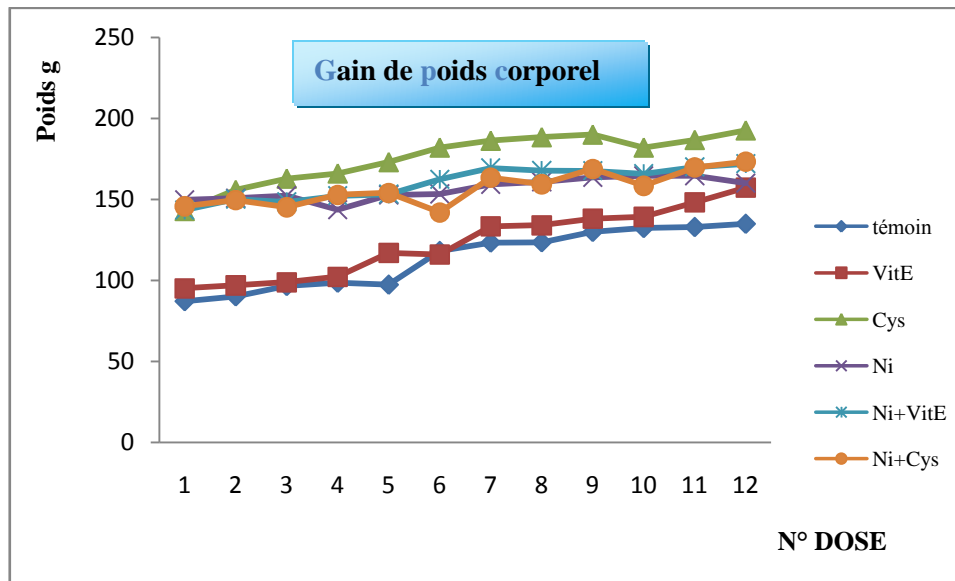


Figure 9: Evaluation en fonction du temps du poids corporel (g) chez le lot témoin et les lots traités au nickel, Cys, Vit E et à la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E

2. Etude biochimique

Tableau III: Variation de la concentration sérique du glucose, triglycéride, cholestérol chez le lot de témoin et les lots traités au nickel, Vit E, Cys et à la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E

Paramètres	Les lots expérimentaux					
	témoin	Vit E	Cys	Ni	Ni+vit E	Ni+ Cys
Glucose (mg/dl)	1,07±0,04	0,92±0,06	0,88±0,09	1,79±0,07 ^{2a}	0,97±0,07	1,12±0,05 ^b
Triglyceride(mg/dl)	0,49±0,04	0,58±0,07	0,61±0,08	0,73±0,33 ^{2a}	0,52±0,08	0,46±0,05 ^{2b}
Cholesterol	0,78±0,06	0,79±0,07	0,71±0,07	0,93±0,14	0,67±0,04	0,54±0,036 ^{2b}

^a: Différence par rapport au témoin.

^{a1 b1} : Différence significative (p<0,05).

^{a2 b2}: Différence hautement significative (p<0,01)

^{a3 b3} : Différence très hautement significative (p<0,001)

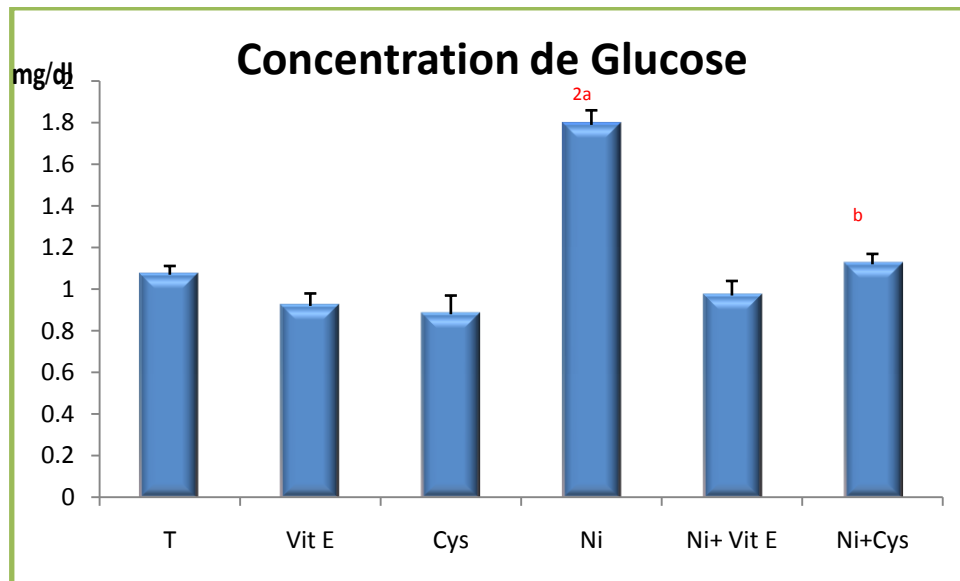
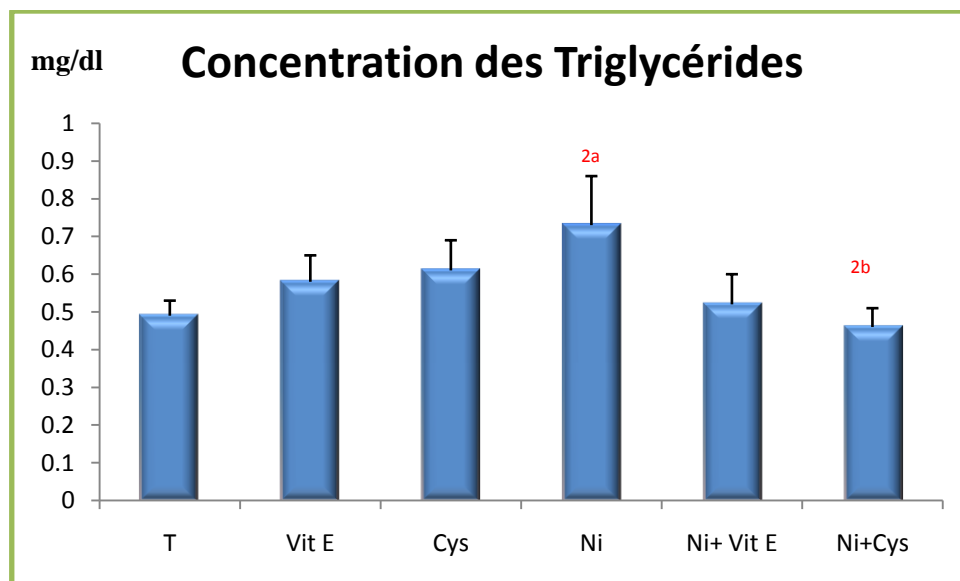


Figure 10: Variation de la concentration sérique de glucose chez le lot de témoin et les lots traités à la nickel, cystéine, vit E et à la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E



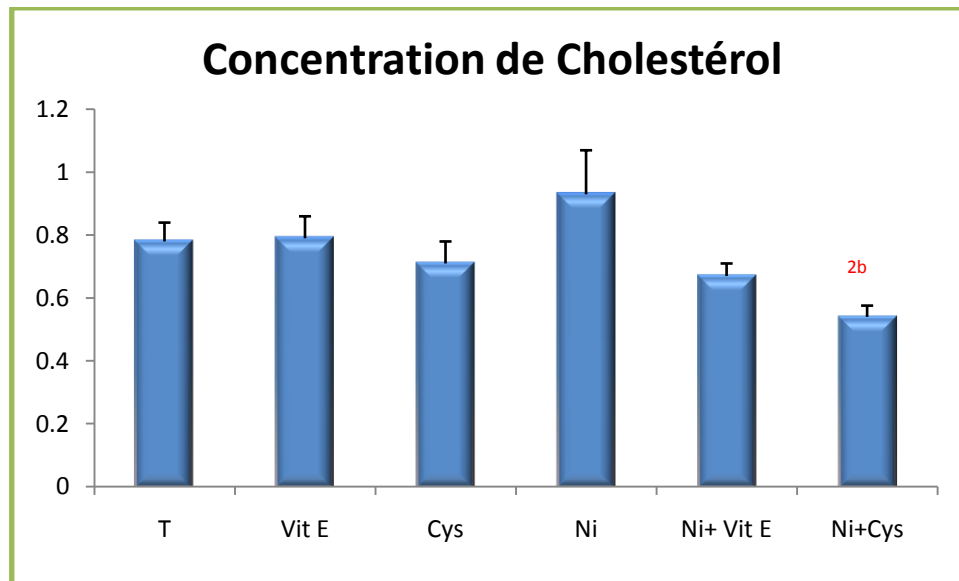


Figure 11: Variation de la concentration sérique de triglycéride, cholestérol chez le lot de témoin et les lots traités au nickel, VitE, Cys et à la combinaison Ni/Cys Ni/VitE

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une augmentation hautement significative de la concentration sérique de glucose, triglycérides chez les lots traités au nickel par rapport au groupe témoin. Aucune signification obtenue chez les restes des groupes traités Cys, Vit E et à la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E.

Cependant nous enregistrons une augmentation statistiquement significative de glucose, cholestérol, triglycérides chez les rats traités au Cys associé au nickel par rapport au groupe de Ni, mais elle est non significative chez le groupe de Nickel/Vit E par rapport au groupe témoin.

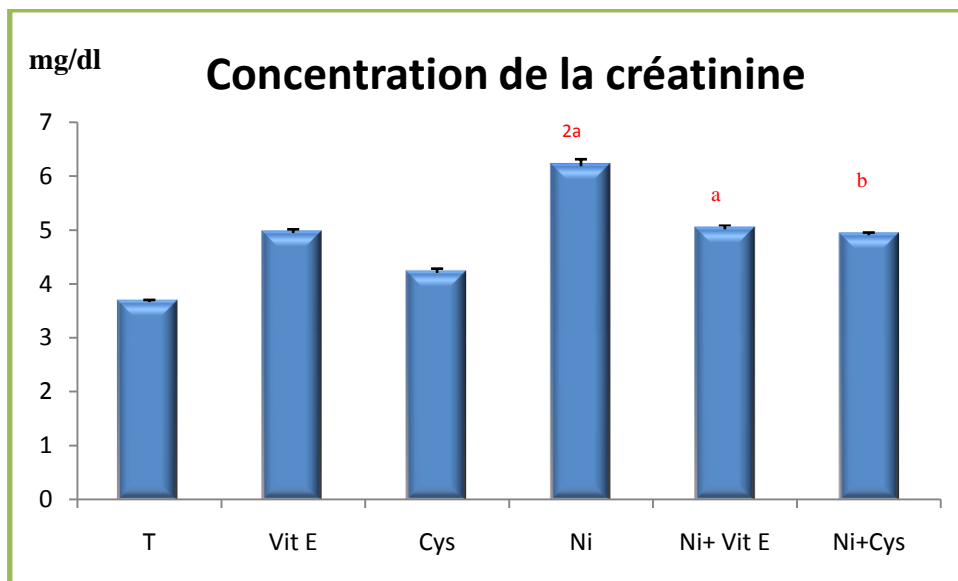
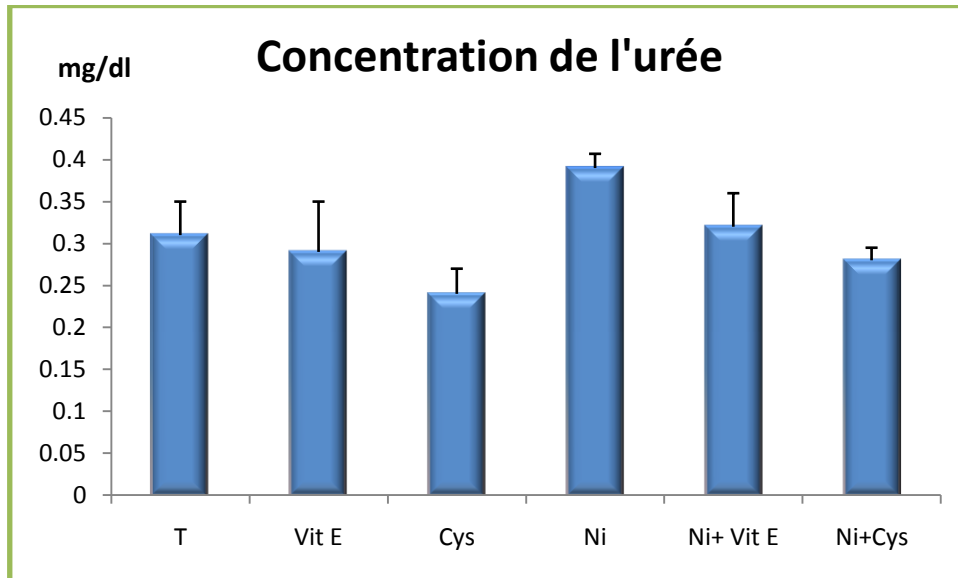
Tableau IV : Variation de la concentration sérique de l'urée, créatinine et l'acide urique chez le lot de témoin et les lots traités au nickel, Vit E, Cys et à la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E

Paramètres	Les lots expérimentaux					
	témoin	Vit E	Cys	Ni	Ni+vit E	Ni+ Cys
L'urée (mg/dl)	0,31±0,04	0,29±0,06	0,24±0,03	0,39±0,17	0,32±0,04	0,28±0,15
Créatinine(mg/dl)	3,66±0,4	4,94±0,6	4,2±0,3	6,18±0,2 ^{2a}	5,01±0,5 ^a	4,9±0,2 ^b
l'acide urique(mg/dl)	2,67±0,4	2,82±0,31	3,1±0,3	3,9±0,5	2,57±0,3	3,2±0,4

^a: Différence par rapport au témoin ^b: Différence par rapport au nickel

^{a1, b1} : Différence significative ($p < 0,05$). ^{a2, b2} : Différence hautement significative ($p < 0,01$)

^{a3, b3} : Différence très hautement significative ($p < 0,001$)



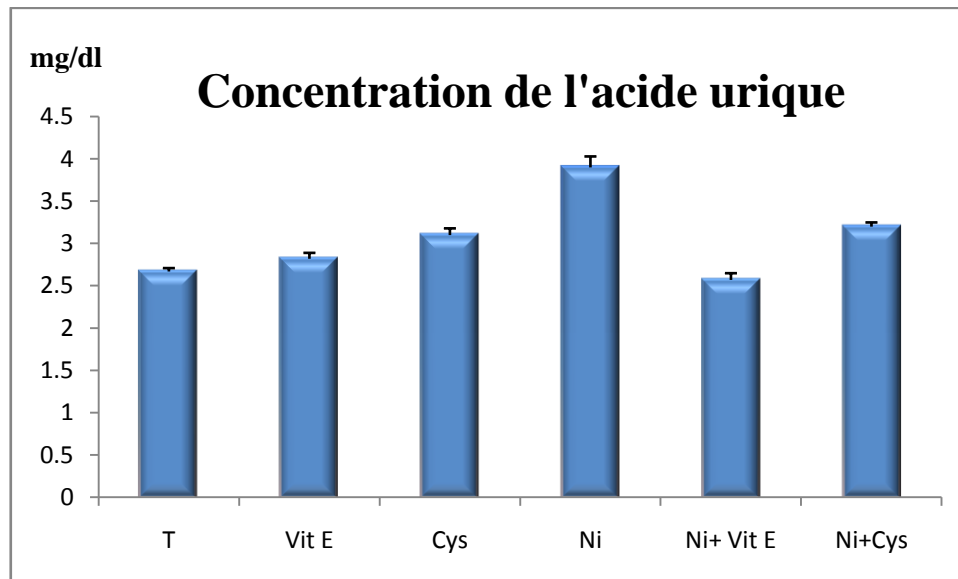


Figure 12: Variation de la concentration sérique de bilan rénale chez le lot de témoin et les lots traités au nickel, Cys, Vit E et a la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E

Nos résultats montrent une augmentation hautement significative de la concentration sérique de la créatinine chez les rats traités au nickel et lots traités au Cys associé au nickel par rapport au témoin, mais elle est significative chez le groupe de Ni/Vit E par rapport au groupe témoin. Cette augmentation est statistiquement non significative chez le groupe traité à la combinaison Ni/Cys en comparaison au lot de Ni.

Autre part, la concentration sérique de l'acide urique, présente une augmentation non significative chez le lot traités au nickel et à la combinaison Ni/Vit E et Ni/Cys par rapport au témoin et au groupe de Ni.

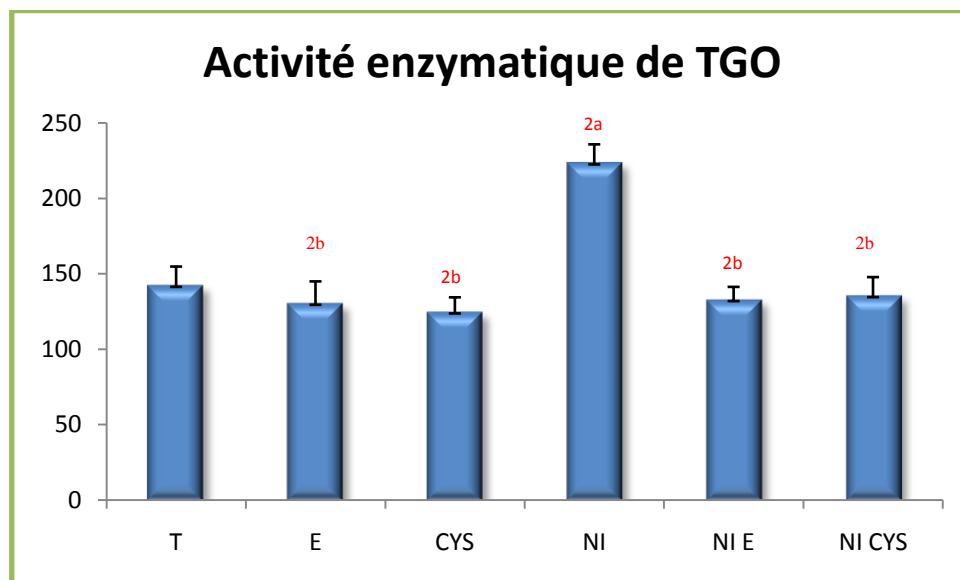
Tableau V : Variation de la concentration sérique de l'activité enzymatique de l'aspartate aminotransférase (AST/TGO), l'alanine aminotransférase (ALT/TGP) chez le lot de témoin et les lots traités au nickel, Cys, Vit E et à la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E

Paramètres	Les lots expérimentaux					
	témoin	Vit E	Cys	Ni	Ni+vit E	Ni+ Cys
AST/TGO	142,3±12,5	130,4±14,5 ^{2b}	124,7±9,7 ^{2b}	223,44±12,3 ^{2a}	132,9±8,4 ^{2b}	135,5±12,3 ^{2b}
ALT/TGP	62,6±4,11	64,94±6,5	55,9±6,2 ^{2b}	87,25±5,73 ^a	69,25±4,7 ^b	74,3±4,29

^a: Différence par rapport au témoin ^b: Différence par rapport au nickel

^{a1, b1} : Différence significative (p<0,05). ^{a2, b2} : Différence hautement significative (p<0,01)

^{a3, b3} : Différence très hautement significative (p<0,001)



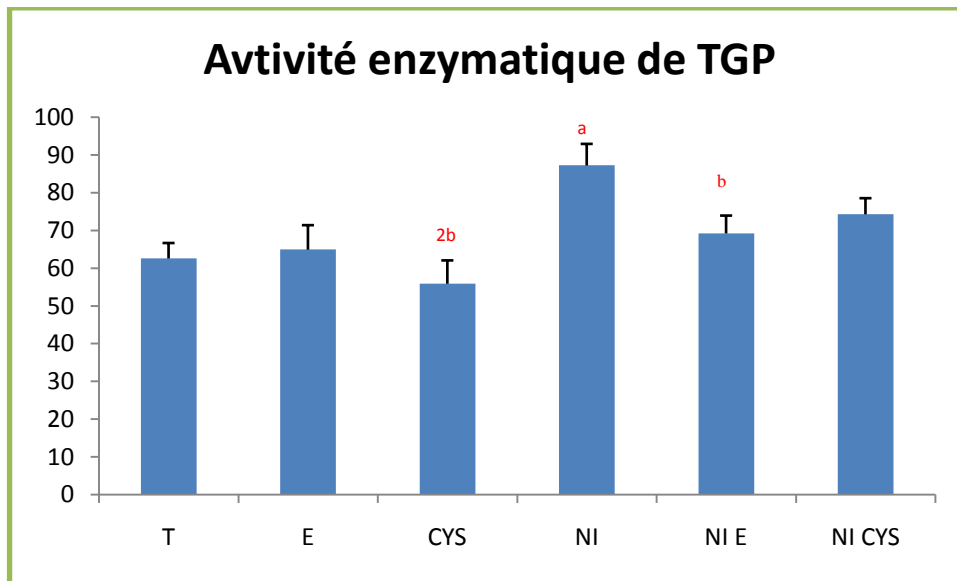


Figure 13: Variation de la concentration sérique d'aspartate aminotransférase (AST/TGO), d'alanine aminotransférase(ALT/TGP), chez le lot de témoin et les lots traités au nickel, Cys, Vit E a la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E

D'après le tableau V et la figure 13 on constate une augmentation hautement significative de l'activité enzymatique des enzymes sériques ; l'Aspartate aminotransférase (AST/TGO) chez les lots traités au nickel par rapport au groupe témoin et chez les lots traités au Vit E, Cys et à la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E par rapport au groupe du nickel. Alors que l'activité enzymatique des enzymes sériques L'alanine aminotransférase (ALT/TGP) montre une augmentation significative chez le groupe traité au nickel par rapport au témoin et on note une augmentation statistiquement significative chez les rats traité au Ni/Cys et non significative pour les lots traité au Vit E associé au nickel par rapport au groupe nickel.

3. Etude hématologique

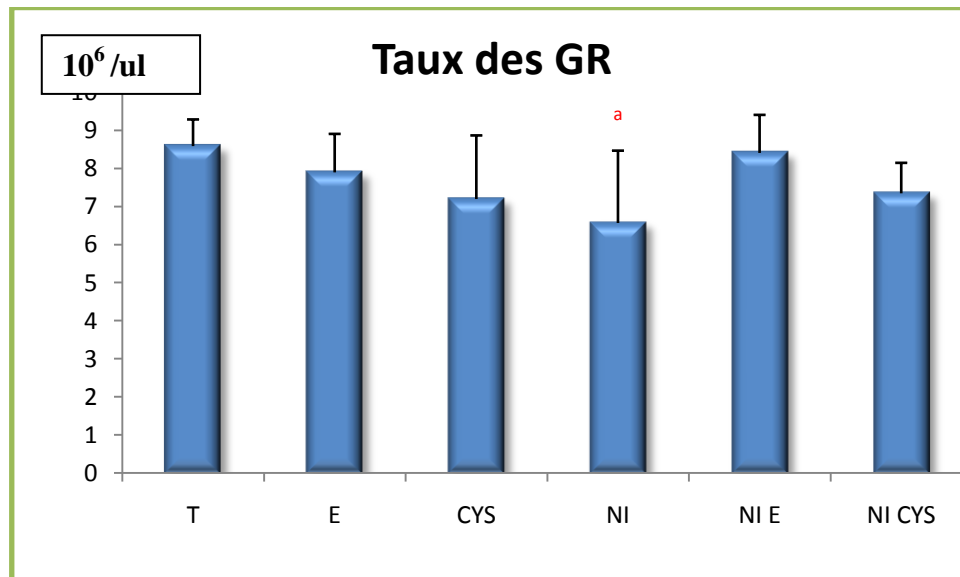
Tableau VI : Variation du nombre des globules blancs (n GB) , des globules rouge (n GR), du tauxmoyend'hémoglobine(HB), du pourcentage'hématocrite (HT) , chez le lot de témoin et les lots traités au nickel, Cys, Vit E et a la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E

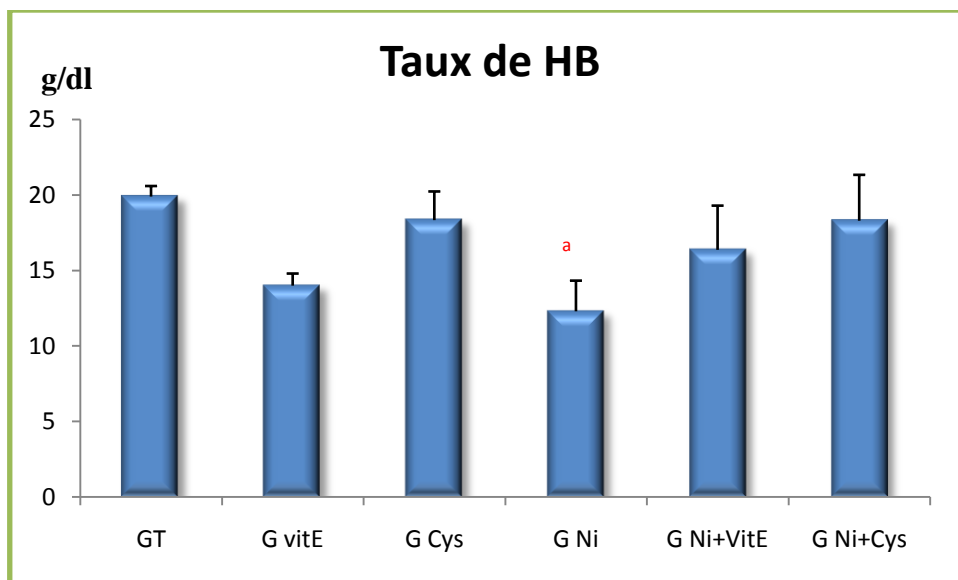
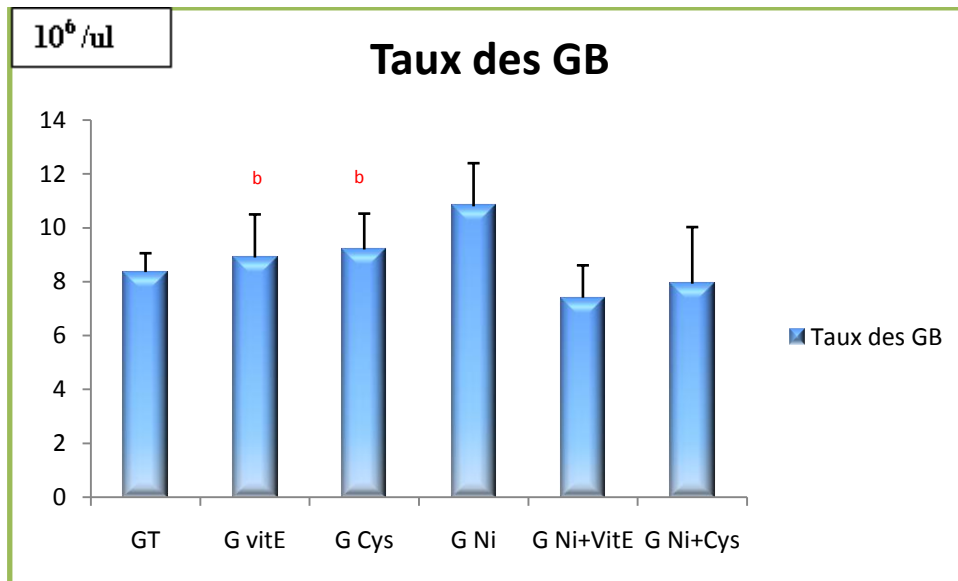
Paramètres	Les lots expérimentaux					
	témoin	Vit E	Cys	Ni	Ni+vit E	Ni+ Cys
nGR(10^6mm^{-3})	8,59±0,7	7,9±1,01	7,2±1,67	6,57±1,9 ^a	8,41±1	7,35±0,8
nGB(10^3mm^{-3})	8,36±0,7	8,9±1,6 ^b	9,2±1,33 ^b	10,8±1,6	7,41±1,2	7,93±2,1
Hb (g/dl)	19,9±0,7	14±0,8	18,34±1,9	12,3±2,03 ^a	16,37±2,93	18,3±3,04
Ht (%)	34,4±3,15	28,6±4,07 ² ^b	36,1±3,9	49,1±4,3	39,4±5,6	41,3±4,8
VGM (fl)	48,4±1,2	48,8±0,96	59,9±0,8	61,7±0,92 ^a	60,7±0,98	61,2±1,01

^a: Différence par rapport au témoin ^b: Différence par rapport au nickel

^{a1, b1} : Différence significative (p<0,05). ^{a2, b2} : Différence hautement significative (p<0,01)

^{a3, b3} : Différence très hautement significative (p<0,001)





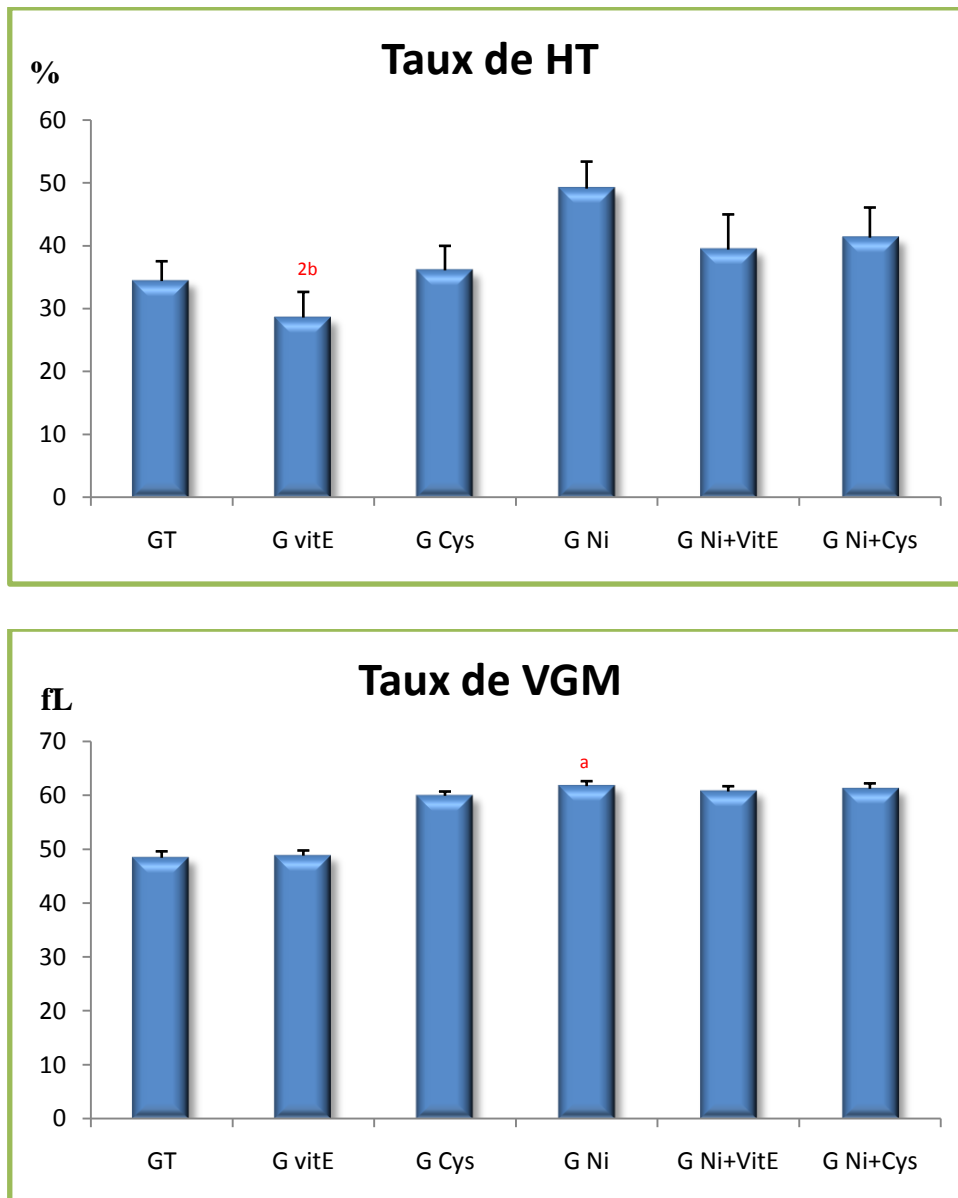


Figure 14: Variation du nombre des globules rouge (n GR), des globules blancs (n GB), du taux moyen d'hémoglobine(HB), du pourcentage d'hématocrite (HT), chez le lot de témoin et les lots traités au nickel, Cys, Vit E et a la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E

L'analyse du taux des globules rouges révèle l'existence d'une légère diminution significative chez les rats traités au nickel, et non significative à la combinaison Ni/ Cys en comparaison avec le lot témoin. On note aussi une augmentation statistiquement significative chez le lot les lots traités au Cys associé au nickel par apport au lot traité au nickel seul.

En ce qui concerne les globules blanc, nous constatons une augmentation pas significative chez les lots traités au nickel par rapport au lot témoin et chez les groupes de Cys, Vit E par rapport au lot nickel seul.

En ce qui concerne l'hémoglobine (HB) on note une diminution non significative chez les lots traité au nickel, et significative chez les lots traités au Cys, Vit E et à la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E en comparaison avec le lot de nickel. On note aussi une augmentation non significative de pourcentage de l'hématocrite (HT) chez le lot traité au nickel, Cys et à la combinaison Ni/Cys et Ni/Vit E par rapport au lot témoin avec une diminution hautement significative chez les lots traités au Vit E par rapport au nickel seul.

L'analyse du taux de volume globulaire moyen révèle l'existence d'une légère augmentation non significative chez les rats traités au nickel à la combinaison Ni/Cys et Ni/ Vit E par rapport au témoin .

Références bibliographique

A

Afonso V., Champy R., et Mitrovic D. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme* 74: 636-643.

Agarwal R., Goel S.K., Chandra R., Behari J.R. (2010). Role of vitamin E in preventing acute mercury toxicity in rat. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 29: 70–78.

Al-Attar A. M. (2011). Antioxidant effect of vitamin E treatment on some heavy metals-induced renal and testicular injuries in male mice. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 18: 63-72.

Ambrose AM., Larson PS., Borzelleca JF., Hennigar GR. (1976). Long term toxicologic assessment of nickel in rats and dogs'. *J Food Sci Technol* 13 :181-187.

Anwar K., Iqbal J., Hussain M.M. (2007). Mechanisms involved in vitamin E transport by primary enterocytes and in vivo absorption. *J Lipid Res*. 48 : 2028-38.

Atkin. MA., Gasper A., Ullegaddi R., (2005). Oxidative susceptibility of unfractionated serum or plasma : response to antioxidants *in vitro* and to antioxidant supplementation. *Clin Chem*. 51 : 2138-2144.

ATSDR. (Agence américaine des substances toxiques et du registre des maladies) (2005). Toxicological Profile for Nickel. Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. August.

Azzi, A., Stocker, A., (2000). Vitamin E: non-antioxidant roles. *Prog. Lipid Res*. 39:231-255.

B

Banerjee B.D., Seth V., Bhattacharya A. (1999). Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers. *Toxicol. Lett*. 107: 33-47.

Barceloux D.G. (1999). *Toxicol. Clin. Toxicol*. 37: 239-258.

Baudin B. (2006). Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *Mt. cardio*. 2(1) : 43-52.

- Beck M.A. (1997).** Increased virulence of Coxsakievirus B3 in mice due to vitamin E or selenium deficiency. *J. Nutr.* 127: 966-70.
- Becker B.F., Reinholz N., Leipert B. (1991).** Role of uric acid as and endogenous radical scavenger and antioxidant. *Chest*, 100(Suppl 3): 176-181.
- Bencko V., Wagner V., Wagnerova M., Reichrtova E. (1983).** Immuno-biochemical findings in groups of individuals occupationally and non-occupationally exposed to emissions containing nickel and cobalt. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol.* 27(4): 387-394.
- Benson J.M., Burt R.L., Carpenter A.F. (1988).** Comparative Inhalation Toxicity of Nickel Sulfate to F344/N Rats and B6C3F1 Mice Exposed for Twelve Days. *Fund. Appl. Toxicol.* 10: 164-178.
- Bierenbaum M.L., Noonan F.J., Machlin L.J. (1985).** The effect of supplemental vitamin E on serum parameters in diabetics, post coronary and normal subjects. *Nutr. Rep. Int.* 31(6): 1171-1180
- Borel P., Pasquier B. (2001).** Processing of vitamin A and E in the human gastrointestinal tract. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 280 : G95-103.
- Borel P. (2003).** Factors affecting intestinal absorption of highly lipophilic food microconstituents (fat-soluble vitamins, carotenoids and phytosterols). *Clin Chem Lab Med.* 41: 979-94.
- Brigelius-Flohe R. (2009).** Vitamin E: the shrew waiting to be tamed. *Free Radic Biol Med.* 46 : 543-54.
- Brun R. (1979).** Nickel dans les aliments et eczéma de contact. *Dermatologica.* 159: 365-70.
- Burkitt M.J.A. (2001).** *Arch. Biochem. Biophys.* 394, 117-135.
- Burton G.W. (1990).** Vitamin E: antioxidant Activity, biokinetics, and Bioavailability. *Annu. Rev. Nutr.* 10: 357-82.
- Burton G.W., Ingold K.U. (1989).** Vitamin E as an in vitro and in vivo antioxidant. *Ann. NY. Acad. Sci.* 570: 7-22.

C

- Cadenas E., Davies J.A. (2000).** *Free Radical. Biol. Med.* 29: 222.
- Cai Y., Zhuang Z. (1999).** 'DNA damage in human peripheral blood lymphocyte caused by nickel and cadmium. *Zhuanghua Yu Fung Yu Xue Za Zhi.*33 : 75-77.

- Camner P., Johansson A. (1992).** Reaction of Alveolar Macrophages to Inhaled Metal Aerosols. *Environ. Health Perspect.* 97: 185-188.
- Camner P., Johansson A., Lundborg M. (1978).** Alveolar Macrophages in Rabbits Exposed to Nickel Dust: Ultrastructural Changes and Effect on Phagocytosis. *Environ. Res.* 16: 226-235.
- CARB. (2008).** Annual Statewide Toxics Summary: Nickel (<http://www.arb.ca.gov/adam/toxics/statepages/nistate.html>).
- Cerruti P. (1985).** Prooxidant state and tumor promotion. *Science.* 227: 375-81.
- Chan A.C., Chow C.K., Chiu D. (1999).** Interaction of antioxidants and their implication in genetic anemia. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 222: 274-82.
- Chan P.H. (2001).** Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 21: 2-14.
- Chen C.Y., Wang Y.F., Huang W.R. (2003).** Nickel induces oxidative stress and génotoxicity in human lymphocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 189: 153-159.
- Chiffolleau J.C. (2001).** La contamination métallique, IFREMER, Région Haute normandie. Programme scientifique Seine-Aval. 8 : 39.
- Cornell R.G., Landis J.R. (1984).** Mortality patterns among nickel/chromium alloy foundry workers. *Nickel in the Human Environment.* Lyon, France, IARC scientific publication. 53: 87-93.
- Costa M., Salnikow K., Sutherland J.E., Broday L., Peng W., Zhang Q., Kluz T. (2002).** The role of oxidative stress in nickel and chromate genotoxicity'. *Mol Cell Biochem.* 234-235, 265-275.

D

- Daldrup T., Haarhoff K., Szathmary S.C. (1983).** Fatal nickel sulfate poisoning. *Beitr Gerichtl Med.* 41: 141-144.
- Das K.K., Dasgupta S. (2002).** 'Effect of nickel sulfate on testicular steroidogenesis in rats during protein restriction. *Environ Health Perspect* 110 (9) : 923-6.
- Das K.K., Das S.N. (2004).** Studies on the role of ascorbic acid on nickel induced hepatic nucleic acid concentrations in rats. *Basic Clin. Physiol. Pharmacol.* 15: 185-195.

- Dasgupta, S., Ghosh, S., eDas, K.K. (1996).** Transaminase activities in some metabolically active tissues in nickel-treated rats under protein restriction, India. *Physiol. Allied Sci.* 50 : 27-33.
- De Haan J.D., Bladier C., Griffiths P. (1998).** Mice with a homozygous null mutation for the most abundant glutathione peroxidase, Gpx1, show increased susceptibility to the oxidative stress-inducing agents paraquat and hydrogen peroxide. *J. Biol. Chem.* 273: 22528-36.
- Dean R.T., Fu S., Stocker R., Davies M.J. (1997).** Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem. J.* 324: 1-18.
- Delattre J. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant ed : TECDOC. Londres-paris –
- Deneke S.M., Fanburg B.L. (1989).** Regulation of cellular glutathione, *Am. J. Physiol.* 257: 163-173.
- Deneke S.M., Fanburg B.L. (1989).** Regulation of cellular glutathione, *Am. J. Physiol.* 257: 163-173.
- Denkhaus E., Salnikow K. (2002).** Nickel essentiality, toxicity, and carcinogenicity. *Cr. Rev. Oncol. J. Hematol.* 42: 35-56.
- Desmettre T., Lecerf J.M., Souied E.H. (2004).** Nutrition et dégénérescence maculaire liée à l'âge. *J Fr. Ophtalmol.* 27: Cahier 2, 3S38-3S56.
- Dieter M.P., Jameson C.W., Tucker A.N. (1988).** Evaluation of tissue disposition, myelopoietic, and immunologic responses in mice after long-term exposure to nickel sulfate in the drinking water. *J. Toxicol. Environ. Health.* 24(3): 357-72.
- Diplock A.T. (1991).** Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview. *Am. J. Clin. Nutr.* 53: 189- 193.
- Dostal, L. A., Hopfer, S.M., Lin S.M., Sunderman., FW. Jr. (1989).** Effects of nickel chloride on lactating rats and their suckling pups, and the transfer of nickel throughratmilk. *Toxicol appl pharmacol.* 101(2) : 220-31.
- Dunnick J.K., Elwell M.R., Benson J.M. (1989).** Lung toxicity after 13-week inhalation exposure to nickel oxide, nickel subsulfide, or nickel sulfate hexahydrate in F344/N rats and B6C3F1 mice. *Fundam Appl Toxicol.* 12(3) 584-594.
- Duranda D., Damonb M., Gobert M. (2013).** Le stress oxydant chez les animaux de rente: principes généraux. *Cahiers de nutrition et de diététique.* 48: 218-224.

Duthie S.J., Ma A., Ross M.A., Collins A.R. (1996). Antioxidant supplementation decreases oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Cancer Res.* 56 : 1291-5.

E

Echevarria G., Massoura S.T., Sterckeman T. (2006). Assessment and control of the bioavailability of nickel in soils. *Environ. Toxicol. Chem.* 25(3): 643-51.

Emrah.C., Metin. A., Halifeoglu. (2007). Antioxidant effects of methionine, α -lipoic acid, N-acetylcystéine and homocystéine on lead-induced oxidative stress to erythrocytes in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology* . pp2-6.

Escobar J.A., Rubio M.A., Lissi E.A. (1996). Superoxide dismutase and catalase inactivation by singlet oxygen and peroxy radicals. *Free Rad. Biol. Med.* 20: 285-90.

Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Ju gens G. (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic. Biol. Med.* 13: 341-90.

Eva H., Sunderman W.F. (1975). Effects of Ni(II) Upon Plasma Glucagon and Glucose in Rats. *Toxicology And Applied Pharmacology.* 33: 388-39.

F

Faure P., Barclay D., Joyeux-Faure M., Halimi S. (2009). Comparison of the effects of zinc alone and zinc associated with selenium and vitamin E on insulin sensitivity and oxidative stress in high-fructose-fed rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.* 21: 113-119.

Favier, A. (2006). Effets biologiques des anti-oxydants : les données de l'étude SU.VI.MAX. *OCL.* 13 (1) : 35-38.

Favier, A. (1997). Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann. Biol. Clin.* 55 (1) : 9-16.

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.

G

Gilgun-Sherki Y, Melamed E, Offen D. (2001). Oxidative stress induced neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. *Neuropharmacol.* 40: 959–75.

Gisela K. Clemons et Joseph F.G. (1981). Neuroendocrine Effects of Acute Nickel Chloride Administration in Rats. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 61: 343-348.

Grandjean P., Nielsen GD., Andersen O. (1989). Human nickel exposure and chemobiokinetics. *Nickel and the skin : immunology and toxicology* 9-35.

Grimble R.F. (1993). The maintenance of antioxidant defenses during inflammation. Springer Verlag. 347-363.

Gupta A.D., Das S.N., Dhundasi S.A., Das K.K. (2008). Effect of Garlic (*Allium sativum*) on Heavy Metal (Nickel II and Chromium VI) Induced Alteration of Serum Lipid Profile in Male Albino Rats. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 5(3): 147-151.

Gupta M., Dobashi K., Greene E.L. (1997). Studies on hepatic injury and antioxidant enzyme activities in rat subcellular organelles following in vivo ischemia and reperfusion. *Mol. Cell. Biochem.* 176: 337–347.

H

Haber L.T., Diamond G.L., Zhao Q. (2000). Hazard identification and dose response of ingested nickel-soluble salts. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 31(2-1): 231-241.

Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O. (2007). Le stress oxydant. *Rev. Med. Liege.* 62(10) : 628-638.

Halliwell B., Gutteridge JMC. (1989). Free radicals in biology and medicine. Clarendon Press, Oxford, 1989, 543.

Halliwell B. (1996) Mechanisms involved in the generation of free radicals. *Pathologie Biologie.* 44: 6-13.

Halliwell B., Gutteridge J.M. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol.* 186:1-85.

Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (2007). Free Radicals in Biology and Medicine. 4 th ed. Oxford university Press. 20-31.

Hare J. (2004). Nitroso-redox balance in the cardiovascular system. *N. Engl. J. Med.* 351: 2112-2114.

- Hartwig A., Kruger I., Beyersmann D. (1994).** Mécanisme in nickel genotoxicity significance of interactions with DNA repair'. *Toxicol Lett* 72 : 353-358.
- Hashizume T., Santo H., Tsujisawa H. (1991).** Mutagenic activities of tryptophan-metabolites before and after nitrite treatment. *Food Chem. Toxicol.* 29: 839-44.
- Hendel R.C., Sunderman F.W.Jr. (1972).** Species variations in the proportions of ultrafiltrable and proteinbound serum nickel. *Res. Commun Chem Pathol. Pharmacol.* 4: 141-146.
- Hercberg S., Czernichow S., Galan P. (2006).** Antioxydants et prévention des maladies chroniques: synthèse des principaux résultats de l'étude SU.VI.MAX. *Sang Thrombose Vaisseaux.* 18(6): 325-30.
- Herrera E., Barbas C. (2001).** Vitamin E: action , metabolism and perspectives; *J. Physiol. Biochem.,* 57 :43-56.
- Hirani S., Shimada T., Osugi J., Kodama N., Suzuki K.T. (1994).** Pulmonary clearance and inflammatory potency of intracheally instilled or acutely inhaled nickel sulfate in rats. *Arch. Toxicol.* 68: 548-554.
- Hong YC., Paik SR., Lee HJ., Lee KH., Jang SM. (1997).** Magnesium inhibits nickel-induced genotoxicity and formation of reactive oxygen'. *Environ Health Perspect* 105 :744-748.
- Hoppe P.P., Krennrich G. (2000).** Bioavailability and potency of natural-source and all-racemic alpha tocopherol in the human: a dispute. *Eur J Nutr.* 39:183-193.
- Housset B. (1990).** Aberrations du métabolisme et des acides nucléiques au cours du vieillissement. Rôle des radicaux libres. *Rev. Med. Interne.* 11: 62-66.
- Huet O., Duranteau J. (2008).** Dysfonction endothéliale : rôle des radicaux libres .new york. 620.
- Hyaden M.R., Tyagi S.C. (2003).** Is type 2 diabetes mellitus a vascular disease (atheroscleropathy) with hyperglycaemia a late manifestation? The role of NOS, NO and redox stress. *Cardiovasc Diabetol.* 2: 2-9.

J

- Iscan M., Ada A.O., Coban T. (2002).** Combined Effects of Cadmium and Nickel on Testicular Xenobiotic Metabolizing Enzymes in Rats, *Biological Trace Element Research.* 89: 178-190.

Iscan M., Coban T., Kapucuoglu N., Aydın A., Isimer A. (2002). Combined Effects of Cadmium and Nickel on Testicular Xenobiotic Metabolizing Enzymes in Rats. *Biological Trace Element Research*. 89: 178-190.

Ishimatsu S., Kawamoto T., Matsuno K., Kodama Y. (1994). Distribution of various nickel compounds in rat organs after oral administration. *Biol Trace Elem Res*. 49(1):43-52.

J

Jegou, B. (1996). Les hommes deviennent-ils moins fertiles ? Moins de spermatozoïdes et de qualité moindre ? L'environnement en question. *La Recherche*. 288 : 60-65.

Jensen S.K., Lauridsen C. (2007). Alpha-tocopherol stereoisomers. *Vitam Horm*,76 : 281-308.

Ji Y.B., Akerboom T.P.M., Sies H., Thomas J.A. (1999). S-nitrosylation and S-glutathiolation of protein sulfhydryls by S-nitroso glutathione, *Arch. Biochem. Biophys*. 362: 67-78.

Jiang Q., Christen S., Shigenaga M.K. (2001). Gamma-tocopherol, the major form of vitamin E in the US diet, deserves more attention. *Am J Clin Nutr*. 74 : 714-22.

Johnson F., Giulivi C. (2005). Superoxide dismutases and their impact upon human health. *Mol. Aspects Med*. 26: 340-52.

Jones D.P., Carlson J.L., Mody V.C. (2000). Sternberg, Redox state of glutathione in human plasma, *Free Rad. Biol. Med*. 28: 625-635.

José M., Mate S., Pérez-Gomez C., De Castro I.N. (1999). Antioxidant Enzymes and Human Diseases. *Clinical Biochemistry*. 32(8): 595-603.

Jotty K., Ojeda M.L., Nogales F. (2009). Selenium tissue distribution changes after ethanol exposure during gestation and lactation: Selenite as a therapy. *Food and Chemical Toxicology*. 47: 2484-2489.

Juurlink BH. (1997). Response of glial cells to ischemia: roles of reactive oxygen species and glutathione. *Neurosci Biobehav Rev*. 21:151-66.

K

Kang, Y.J., Chen, Y., Epstein, P.N. (1996). Suppression of doxorubicin cardiotoxicity by overexpression of catalase in the heart of transgenic mice. *J. Biol. Chem*. 271: 12610-12616.

Kazimierz S., Kasprzak A., Sunderman F.W. (2003). Nickel carcinogenesis .University of Vermont College of Medicine, Burlington, VT 05401, USA Mutation Research. 533: 67-97.

Kirk O. (1981). Encyclopedia of chemical technology'. New York John Wiley and sons 15 : 787-819.

Kojo S. (2004). Vitamin C: basic metabolism and its function as an index of oxidative stress, Curr. Med. Chem. 11: 1041-1064.

Kuroiwa K., Nelson J., Boyce S., Alexander J., Ogle C., Inoue S. (1991). Metabolic and immune effect of vitamin E supplementation after burn. JPEN.15 : 22-26.

L

Leach, C.N., Linden, J.V., Hopfer, S.M., Crisostomo, M.C., Sunderman, F.W. (1985). Nickel concentrations in serum of patient with acute myocardial infarction or instable angina pectoris. Clin Chem.31 :556-60.

Lei YX., Chen JK., Wu ZL. (2001). Detection of DNA strand breaks DNA-protein crosslinks and tolemerase activity in nickel-transformed'. BALB/c-3T3 Teratog Carcinog Mutagen 21 : 463-71.

Leger C.L. (2000). La vitamine E : état actuel des connaissances, rôle dans la prévention cardio-vasculaire, biodisponibilité. Oléagineux, Corps Gras, Lipides. 7 (3) : 258-65.

Léger C. (1992.) Vitamine E, tocophérols et composés apparentés : propriétés anti-oxygène et rôle biologique, sources alimentaires. Polytechnica.

Lennon C., Davidson K.W., Sadowski J.A., Madson J.B. (1993). The vitamin K content of intravenous lipid emulsions. JPEN. 17 : 142-144.

Lindau-Sehpard B., Shaffer J. (1993). Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage. Free Rad. Biol. Med. 15: 581-8.

Lloyd G.K. (1980). Dermal absorption and conjugation of nickel in relation to the induction of allergic contact dermatitis Preliminary results. Brown SS Sunderman FW Jr Nickel toxicology. London UK Academic Press. 145-148.

Lu H., Shi X., Costa M., Huang C. (2005). Carcinogenic effect of nickel compounds. Molecular and Cellular Biochemistry. 279: 45–67.

M

Machlin I.J., Bendich A. (1987). Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J.* 1: 441-5.

Maiese K., Chong Z.Z., Hou J. (2010). Oxidative stress: Biomarkers and novel therapeutic pathways. *Experimental Gerontology.* 45: 217-234.

Mates J.M., Perez-Gomez C., De Castro I.N. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin. Biochem.* 32: 595-603.

Mathur A.K., Datta K.K., Tandon S.K., Dikshith T.S. (1977). Effect of nickel sulphate on male rats. *Bull Environ Contam Toxicol.* 17(2): 241-248.

Mathur A.K., Tandon S.K. (1979). Some biochemical alterations in early nickel toxicity. *Chemosphere Nos.* 11/12: 895-901.

Matsumoto O., Fridovich. (2001). Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver: Cu, Zn-SOD in mitochondria. *J. Biol. Chem.* 276: 38388-38393.

Mc Cord J.M., Edeas M.A. (2005). SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision. *Biomed. Pharmacother.* 59: 139-42.

Mc Pherson A. (1994). Selenium vitamin E and biological oxidation. In: Cole DJ, Garnsworthy PJ editors. *Recent advances in animal nutrition.* Oxford: Butterworth and Heinemann's. 3-30.

Morel Y., Barouki R. (1998). Influence du stress oxydant sur la régulation des gènes. *médecine/sciences.* 14: 713-21.

Morzell M., Gatellier P., Sayd T. (2006). Chemical oxidation decreases proteolytic susceptibility of skeletal muscle myofibrillar proteins. *Meat Sci* 73: 536-43.

Mouffok S. (2008). Effets du Chlorure de Nickel sur le déterminisme de la reproduction chez la rate gestante de souche wistar.

N

Nakajima., K, Nakano T., Tanaka A. (2006). The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis : The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clin Chim Acta.* 367 : 36-47.).

Navarro-Alarcon M., Cabrera-Vique C. (1993). Selenium in food and the human body: A review. *Science of the total environment.* 400: 115-141.

Nelson S.K., Bose S.K., Mc Cord J.H. (1994). The toxicity of high dose superoxide dismutase suggests that superoxide can both initiate and terminate lipid peroxidation in the reperfused heart. *Free Rad. Biol Med.* 16: 195-200.

Neve J. (1992). Clinical implications of trace elements in endocrinology. *Biol. Trace El Res.* 32 : 173-185.

Nielsen G.D., Andersen O., Jensen M. (1993). Toxicokinetics of nickel in mice studied with the gamma-emitting isotope ^{57}Ni . *Fundam Appl Toxicol* 21 :236-243.

Nielsen G.D., Soderberg U., Jorgensen P.J. (1999). Absorption and retention of nickel from drinking water in relation to food intake and nickel sensitivity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 154(1): 67-75.

Nohl H. (1994). Generation of superoxide radicals as by product of cellular respiration. *Ann Biol Clin.* 52: 199-204.

Novelli E.L.B., Hernandes R.T., Novelli Filho J.L.V.B., Barbosa L.L. (1998). Differential/combined effect of water contamination with cadmium and nickel on tissues of rats, *Environmental Pollution.* 103: 295-300.

O

Oller A.R., Costa M., Oberdörster G. (1997). Carcinogenicity assessment of selected nickel compounds. *Toxicol Appl Pharmacol.* 143:152-166.

Ottolenghi A.D., Haseman J.K., Payne W.W., Falk H.L., Mac Farland H.N. (1974). Inhalation studies of nickel sulfide in pulmonary carcinogenesis of rats. *J. Natl Cancer Inst.* 54(5): 1165-1172.

P

Pari L., Prasath A. (2008). Efficacy of caffeic acid in preventing nickel induced oxidative damage in liver of rats. *Chem. Biol. Interact.* 173: 77-83.

Pastore A., Federici G., Bertini E., Piemonte F. (2003). Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clin. Chim. Acta.* 333: 19-39.

Peck M., Alexander J. (1991). Survival in septic guinea pigs is influenced by vitamin E, but not by vitamin C in enteral diets. *JPEN.* 15: 433-436.

Pichard A. (2006). Nickel et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Verneuil en Halatte: INERIS: 71.

PISSC (Programme international sur la sécurité des substances chimiques).(1991). *Nickel*, Critères d'hygiène de l'environnement, n° 108, Organisation mondiale de la santé, Genève (Suisse). 384.

Poli G., Leonarduzzi G., Biasi F., Chiarpotto E. (2004). Oxidative stress and cell signaling. *Curr. Med. Chem.* 11: 1163–1182.

Pompella A., Visvikis A., Paolicchi A., (2003). The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. *Biochem. Pharmacol.* 66: 1499-1503.

Prasad L., Husain Khan T., Jahangir T., Sultana S. (2006). Chemomodulatory effects of *Terminalia chebula* against nickel chloride induced oxidative stress and tumor promotion response in male Wistar rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.* 20: 233-239.

Prasad R., Nath R. (1995). Cadmium-induced nephrotoxicity in rhesus monkey (*Macaca mulatta*) in relation to protein calorie malnutrition. *Toxicology.* 100: 89-100.

Pryor W.A. (2000). Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials. *Free Rad. Biol. Med.* 28: 141-164.

Pryor W.A., Squadrito G.L. (1995). The chemistry of peroxynitrite : a product from the reaction of nitric oxide with superoxide. *Am. J. Physiol.* 268 : 622-99.

Puppo A., Halliwell B. (1988). Formation of hydroxyl radicals from hydrogen peroxide in the presence of iron. Is haemoglobin a biological Fenton reagent? *Biochem. J.* 249: 185-90.

R

Ré D.B., Nafia I., Nieoullon A. (2005). Stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate ? Implications sur la survie neuronale. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation.* 24 : 502-509.

Reboul E. (2011). Absorption intestinale des vitamines liposolubles. *OCL.* 18(2) : 53-58.

Rendall R.E., Phillips J.I., Renton K.A. (1994). Death following exposure to fine particulate nickel from a metal arc process. *Ann Occup Hyg.* 38(6): 921-930.

Rezuke W.N., Knight J.A., Sunderman F.W. (1987). Reference values for nickel concentrations in human tissues and bile. *Am. J. Ind. Med.* 11(4): 419-26.

Rice ME. (2000). Ascorbate regulation and its neuroprotective role in the brain. *Trends Neurosci.* 23: 209-16.

Ryter S.F. et Tyrell R.M. (2000). The heme synthesis and degradation pathways: role in oxidant sensitivity. Heme oxygenase has both pro and antioxidant properties. *Free Rad. Res.* 36: 1299-1306.

S

Saad., A., Virella G., ChassereauCh. (2006). OxLDL immune complexes activate complement and induce cytokine production by MonoMac 6 cells and human macrophages. *J LipidRes.* 47 :1975-1983.

Salamaa A.F., Kasemb S.M., Toussonc E., Elsisy M.K.H. (2013). Protective role of L-carnitine and vitamin E on the kidney of atherosclerotic rats. *Biomedicine and Aging Pathology.* 2: 212-215.

Salle B.L., Delvin E., Claris O. (2005). Vitamines liposolubles chez le nourrisson. *Archives de pédiatrie* 12 : 1174–1179.

Sanjay G., Nihal A., Mirza M.H., Ramesh C.S. (2000). Involvement of Nitric Oxide in Nickel-Induced Hyperglycemia in Rats. *Biology and Chemistry.* 4(2): 129-138.

Sarkar B. (1984). Nickel metabolism. Nickel in the human environment. 367-384.

Schollhammer M., Guillet M.H., Guillet G. (1994). Nickel et peau. *Ann Dermatol Venereol.* 121: 338-45.

Shannon H.S., Walsh C., Jadon N. (1991). Mortality of 11,500 nickel workers--extended follow up and relationship to environmental conditions. *Toxicol Ind Health.* 7(4): 277-294.

Shenkin A. (1993). Current concepts on trace element requirements in nutrition. *Clin. Nutr.* 12 : 114-118.

Sies, H. (1999). Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radic. Biol. Med.* 27: 916-21.

Smith M.K., Georges E.L., Stober T.R. (1993). Perinatal toxicity associated with nickel chloride exposure. *Environ. Res.* 61: 200-201.

Sobti RC., Gill RK. (1989). Incidence of micronuclei and abnormalities in the head of spermatozoa caused by the salts of a heavy metal nickel'. *Cytologia* 54 :249-254.

- Sohal R.S., Svensson I., Brunk U.T. (1990).** Hydrogen peroxide production by liver mitochondria in different species. *Mech. Ageing Dev.* 53: 209-215.
- Solomons N.W., Viteri F., Shuler T.R., Nielsen F.H. (1982).** Bioavailability of nickel in man: effects of foods and chemically-defined dietary constituents on the absorption of inorganic nickel. *J Nutr.* 112(1): 39-50.
- Soudani N., Sefi M., Ben Amara I., Boudawara T., Zeghal N. (2010).** Protective effects of Selenium(Se) on Chromium(VI) induced nephrotoxicity in adult rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 73: 671-678.
- Soudani N., Ben Amara I., Sefi M., Boudawara T., Zeghal N. (2011).** Effects of selenium on chromium (VI)-induced hepatotoxicity in adult rats. *Experimental and Toxicologic Pathology.* 63: 541- 548.
- Spiegelberg T., Kordel W., Hochrainer D. (1984).** Effects of NiO inhalation on alveolar macrophages and the humoral immune systems of rats. *Ecotoxicol Environ Saf.* 8(6): 516-525.
- Stamler J.S., Slivka A. (1996).** Biological chemistry of thiols in the vasculature and in vascular-related disease. *Nutr Rev.* 54: 1-30.
- Stocker R., Yamamoto Y., Mc Donagh A.F. (1987).** Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science.* 235: 1043-6.
- Stoltz A., Sauvage C., Lamblin C. (2003).** Urticaire chronique par allergie alimentaire au nickel. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique.* 43: 492-496.
- Sunderman F.W., Hopfer S.M., Sweeney K.R., Marcus A.H., Most B.M., Creason J. (1989).** Nickel absorption and kinetics in human volunteers. *Proc Soc Exp Biol Med.* 191(1): 5-11.
- Sunderman F.W., Dingle B., Hopfer S.M., Swift T. (1988).** Acute nickel toxicity in electroplating workers who accidentally ingested a solution of nickel sulfate and nickel chloride. *Am J Ind Med.* 14: 257-266.
- Sunderman F.W., Oskarsson. (1991).** Nickel metals and their compounds in the environment. Merial E, (éd), VCH Verlagsgesellschaft. 1101-1126.
- Sunderman F.W., Jr. (1987).** Physiocochemical characteristics and biological effects of nickel oxides. *Carcinogenesis.* 8: 305-313.

T

Tessier F., Marconnet P. (1995). Radicaux libres, système antioxydant et exercice. *Science et sport*. 10 : 1-13.

Traber M.G. (2007). Vitamin e regulatory mechanisms. *Annu Rev Nutr*. 27 : 347-62.

Traber M.G., Kayden HJ. (1989). Preferential incorporation of α -tocopherol vs γ tocopherol in human lipoproteins. *Am J Clin Nutr*. 49:517-526.

V

Valko M., Rhodes C.J., Moncola J. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 160: 1-40.

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.

Valko M., Morris H., Cronin M.T. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr. Med. Chem.* 12(10): 1161-1208.

Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., IzakovicM. et Mazur M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 160 : 1-40.

Van Acker S.A., Kaymans L.M., Basr A. (1993). Molecular pharmacology of vitamin E : structural aspects of antioxidant activity. *Free Rad Biol Med*. 15: 311-328.

Vitoux D., Chappuis P., Arnaud J., Bost M. (1996). Accominotti M, Roussel AM. Selenium, glutathion peroxydase, peroxydes et fonctions plaquettaires. *Ann Biol Clin*. 54: 181-7.

Von Burg R. (1997). Toxicology update. Nickel and some nickel compounds. *J. Appl. Toxicol.* 17(6): 425-431.

W

Wang XX., Zhu YZ. (2003). Effet of nickel sulfate on gonad of female rats. *Chung-Kuo Kung Kung Wei Sheng. China publique Health*. 19 : 946.

Wardman P., Candeias L.P. (1996). *Radiat. Res.* 145 : 523.

المخلص

البحث الحالي سمح بدراسة تأثير النيكل و دراسة دور الحمض الاميني سيستيين وفيتامين E عند فئران ذكور بيضاء من سلالة وستار نظرا لتأثير التكامل بينهما.

سنة و ثلاثون فارا وزعوا على ستة اقسام في كل قسم ستة فئران ثم طبقنا عليهم جرعات مختلفة لمدة 21 يوما. وفقا للنتائج التي تم الحصول عليها لدينا بعد المعاملة بسلفات النيكل عن طريق الحقن داخل الصفاق ، و تسبب النيكل ؛ بتسمم كلوي (زيادة اليوريا، و الكرياتينين وحمض اليوريك في الدم) ، تسمم كبدي زيادة النشاط الأنزيمي (GOT، GPT) و تسمم في الدم (انخفاض معدل خلايا الدم الحمراء ، وتركيز الهيموجلوبين ونسبة الهيماتوكريت.) أظهرت النتائج أيضا أن إضافة فيتامينE و السيستيين عن طريق الحقن داخل الصفاق ، مع فئران حقنوا مسبقا بالنيكل، أدى إلى تحسن شمل الدراسة للعناصر الحيوية، توابث الدم ومؤشرات الأكسدة.

في الختام، السيستيين وفيتامين E من مضادات الأكسدة القوية بسبب خصائصهم الوقائية الثنائية و القدرة على إعادة التوازن بإزالة معظم الجذور الحرة و آثارها السامة ، و بالتالي ، انخفاض التأثير السام للنيكل.

الكلمات الدالة: الاكسدة , مضاد للأكسدة , النيكل, فيتامين E ، السيستيين , تسمم كبدي.

Résumé

Notre travail tend à mettre en évidence, simultanément, l'effet nocif de nickel sur des paramètres pondéraux, biochimiques et hématologiques, et le rôle protecteur de la vitamine E et de la cystéine en réduisant ou éliminant les effets cytotoxiques induits par le nickel chez des rats de la souche Wistar.

Pour cela, 36 rats répartis en six lots de six rats chacun dont 3 lots sont traités par le nickel par injection ip à une dose de 20 mg/kg de poids corporel. L-Cystéine et la vitamine E sont administrés par voie orale à des concentrations de 100 mg/kg du poids corporel. Après trois semaines de traitement, les rats sont sacrifiés et les différents paramètres sont déterminés.

A partir de l'analyse de nos résultats, on observe une diminution considérable du gain de poids durant le traitement au nickel et des perturbations dans les paramètres biochimiques et hématologiques caractérisés par une augmentation significative des concentrations sériques du glucose, des triglycérides, du cholestérol, de l'urée de la créatinine et de l'acide urique chez les rats traités au Ni par rapport aux rats témoins et aussi une toxicité hématologique chez le lot traité au nickel. De plus, l'activité des transaminases (TGO, TGP), présente une augmentation remarquable chez les rats traités par le nickel.

Par ailleurs, le traitement par la cystéine et la vitamine E entraîne une amélioration de l'ensemble des paramètres biochimiques, hématologiques étudiés.

En conclusion, la présente étude a montré que l'exposition au nickel a des effets toxiques sur les paramètres mentionnés précédemment, la cystéine et la vitamine E sont douées d'une activité antioxydante remarquable et sont capables de piéger et de neutraliser la plupart des radicaux libres, et par conséquent, elles peuvent constituer un protecteur contre les effets toxiques du nickel.

Mots clés : Stress oxydant ; Antioxydant ; Nickel ; Cystéine ; Vitamine E ; Hépatotoxicité

Abstract

The goal of this study was designed to in vivo determine the protective role of the cystéine and vit E on the nickel toxicity. It is about an experimental study conducted to the laboratory on 30 rats male divided into 6 batches of 5 rats each one 3 batches are treated by nickel IP with an amount of 20 mg/kg of body weight. L-Cys and Vit E are managed by oral way with concentrations of 100 mg/Kg of the body weight. After three weeks of treatment, the rats are sacrificed and the various parameters are given.

From the analysis of our results, one observes a reduction considerable in the profit of weight during the treatment nickel more than that of the batches treated by the combination Ni/Cys and Vit E, and also of the change in the parameters biochemical and hemtologic characterized by a reduction in the serum concentration of glucose and a significant increase of the concentration of triglycerides, cholesterol, urea of creatinin in the rats treated with Nor by contribution with the pilot rats and also a hematologic toxicity at the batch treated with nickel.

More over, the activity of transaminases (TGO, TGP), serum urique present a remarkable increase in the treated rats.

By ailleurs, the treatment by the addition of Cys and Vit E improved some but not all the biochemical parameters and especially that of the renal and hepatic function

In conclusion, the Cystéine and vitamin E are powerful because of their protective effects in synergy; they are able to neutralize most of free radicals and their toxic effects, consequently, decreasing the toxic effect of nickel.

Key words: Oxidative stress; Antioxydant; Nickel; Cystéine ; Vitamin E; Hépatotoxicité.

Nom :GHENIMA Prénom :RIMA	Date de soutenance : 02/06/2016	
Nom :BOUDOUAOUR Prénom :Wided		
Master Académique en Biologie		
Option : Biochimie appliquée		
Contribution à l'étude des effets d'alpha-tocophérol et la cystéine sur la toxicité de nickel chez des rats de la souche <i>Albino Wistar</i> (aspect biochimique, hématologique)		
Résumé		
<p>Notre travail tend à mettre en évidence, simultanément, l'effe tncif de nickel sur des paramètres pondéreux, biochimiques et hématologiques, et le rôle protecteur de la vitamin E et de la cystéine en réduisant ou éliminée les effets cytotoxique induit par le nickel chez des rats de la souche Wistar.</p>		
<p>Pour cela, 36 rats répartis en six lots de six rats chacun dont 3 lots sont traité par le nickel par injection ip à une dose de 20 mg/kg de poids corporel. L-Cystéine et la vitamine E sont administrés par voie orale à des concentrations de 100 mg/kg du poids corporel. Après trois semaines de traitement, les rats sont sacrifiés et les différents paramètres sont déterminés.</p>		
<p>A partir de l'analyse de nos résultats, on observe une diminution considérables du gain de poids durant le traitement au nickel et des parturbations dans les paramètres biochimiques et hématologique caractérisés par une augmentation significative des concentrations sérique du glucose, des triglycérides, du cholestérol, de l'urée de la créatinine et de l'acide urique chez les rats traités au Ni par rapport aux rats témoins et aussi une toxicité hématologique chez le lots traité au nickel. De plus, l'activité des transaminases (TGO, TGP), présent une augmentation remarquable chez les rats traités par le nickel.</p>		
<p>Par ailleurs, le traitement par la cystéine et la vitamine E entraînent une amélioration de l'ensemble des paramètres biochimiques, hématologique étudiés.</p>		
<p>En conclusion, la présente étude a montré que l'exposition au nickel a des effets toxiques sur les paramètres mentionnés précédemment, la cystéine et la vitamine E sont doué d'une activité antioxydante remarquable set sont capables de piéger et de neutraliser la plupart des radicaux libres, et par conséquence, elles peuvent constituer un protecteur contre les effets toxiques du nickel.</p>		
Mots clés : Stress oxydant ; Antioxydant; Nickel ; Cystéine ; Vitamine E; Hépatotoxicité		
Devant le jury		
Président : M ^{me} BOUAKKAZ Amel	MAA	Univ.Abbés Laghrour Khenchela
Encadreur : BOUHALIT Samira	MAA	Univ.Abbés Laghrour Khenchela
Examineurs : M ^{me} MESSAI Alima	MAA	Univ.Abbés Laghrour Khenchela