



Université Mohamed Seddik Ben Yahia, Jijel
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de l'Environnement et des
Sciences Agronomiques

جامعة محمد الصديق بن يحيى، جيجل
كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم علوم المحيط و العلوم الفلاحية

Mémoire

Présenté par :

Melle Zeyneb CHOUIT

Pour l'obtention du diplôme de

Magister

Filière : Biologie.

Option : environnement et santé

Thème

**Evaluation et caractérisation des risques neurologiques, hépatiques et rénaux
associés à l'exposition aux métaux lourds
(Cas du plomb et du cadmium) dans l'organisme.**

Soutenu publiquement le 22 / 02 / 2017

devant le jury composé de :

Président : Mr. MAYACHE Boualem, Pr. Université Mohamed Seddik Ben Yahia, Jijel.
Rapporteur: Mr. KEBIECHE Mohamed, MCA Université Mohamed Seddik Ben Yahia, Jijel.
Examineurs: Mr. LAHOUEL Mesbah, Pr. Université Mohamed Seddik Ben Yahia, Jijel.
Mr. SIFOUR Mohamed, Pr. Université Mohamed Seddik Ben Yahia, Jijel.

Remerciement

J'aimerais bien d'exprimer d'abord mes remerciements les plus sincères et les plus chaleureux à Allah tous puissant qui a inséré dans mon cœur la patience et le courage me permette ainsi de réaliser ce travail.

J'aimerais de remercier tous mes enseignants qui ont été un bon bénéfice durant mon étude ainsi mes collègues qui sont très cher pour moi.

*Un grand merci au docteur **Kebieche Mohamed** pour son encadrement, son implication et sa confiance et surtout sa patience.*

Je remercie aussi infiniment les directeurs, les membres et les ingénieurs des laboratoires de toxicologie cellulaire et de pharmacologie et phytochimie ; merci de m'avoir accueillie dans votre laboratoires avec un grand cœur.

*Un merci chaleureux aux membres de jury **Pr. Mayache Boualem, Pr. Lahouel Mesbah et Pr. Sifour Mohamed**, pour avoir accepté d'évaluer ce travail et pour leurs corrections qui sont permis d'améliorer ce manuscrit.*

Au font du mon cœur j'aimerais remercier tous les doctorants biologistes et chimistes pour avoir répondu inlassablement à tous mes questions, pour leur aide dans les jours de travail les plus long, pour leur bonne humeur et pour leur capacité à supporter stoïquement m'imposition parfois exagérées.

De manière générale, merci à tous les ingénieurs de laboratoire de la pédagogie pour leur soutien et leur patience.

Un très grand remerciement s'adresse également aux étudiantes de master pour leur participation durant la réalisation de ce travail.

*Enfin, je remercie infiniment **ma famille, mes amis** qui ont été là dans les bons comme dans les mauvaises moments, pour leur soutien inestimable et leur accompagnement jusqu'au jour de la soutenance.*

Sommaire

Liste des figures	i
Liste des tableaux.....	iii
Liste des abréviations.....	iv
Introduction.....	1

I. Synthèse bibliographique

Chapitre 01: la physiologie neuronale hépatique et rénale

I.1. la neurophysiologie de cerveau.....	3
I.2. Les désordres neurologiques.....	3
II. Physiologie du foie	4
III. Physiologie Rénale	5

Chapitre 02: La toxicité des métaux lourds

I. Les métaux lourds.....	7
I.2. le cadmium.....	9
I.3. le plomb.....	10
II. les métaux lourds et le stress oxydatif.....	12
II.1 Le stress oxydatif induit par le plomb.....	12
II.2. Le stress oxydatif induit par le cadmium.....	15
III. Neurotoxicité des métaux lourds.....	17
III.1. Neurotoxicité de cadmium.....	17
III.2. Neurotoxicité du plomb.....	19
IV. Hépatotoxicité liée aux métaux lourds.....	20
IV.1. Hépatotoxicité induite par le plomb.....	20
IV.2. Hépatotoxicité induite par le cadmium.....	20

V. Néphrotoxicité liée aux métaux lourds.....	23
V.1. La néphrotoxicité liée au Cadmium.....	23
V.2. La néphrotoxicité liée au plomb.....	23
VI. Effet génique des métaux lourds.....	25
VI.1. La génotoxicité liée au cadmium	25
VI.2. La génotoxicité liée au plomb.....	26

II. Partie Pratique

Chapitre 01. Matériel et méthodes

I. Matériel	28
I.1. Entretien des animaux	28
I.2. Les métaux et les doses choisis.....	28
II. Méthodes	28
II.1. Préparation des solutions	29
II.2. Traitement des animaux	29
II.3. Les tests de comportement	29
II.3.1. Test du champ ouvert (<i>Open Field test</i> (OF))	29
II.3.2. Test d'exploration de la boîte éclairée /obscur (Light/Dark box test)	30
II.3.3. Test de <i>Konzielas inverted screen</i>	31
II.4. Sacrifice des animaux	32
II.5. Préparation des échantillons à testés.....	32
II.5.1. les neurométochondries.....	32
II.5.1.1. Isolement des mitochondries du cerveau.....	32
II.5.1.2. Préparation de la matrice mitochondriale.....	33
II.5.2. Préparation de la fraction cytosolique.....	33
II.6. Dosage de paramètres de stress	33
II.6.1. Dosage de l'MDA	33
II.6.2. Mesure de l'activité de la catalase	34
II.6.3. Dosage de glutathion	35
II.6.4. Mesure de l'activité de glutathion S transférase	35

II.6.5. Mesure de l'activité de la SOD	36
II.6.6. Dosage des protéines.....	37
II.7. Dosage biochimique.....	37
II.7.1. Mesure des marqueurs enzymatiques (TGO, TGP).....	37
II.7.2. Dosage de créatinine sérique	38
II.7.3. Dosage d'uréesérique.....	38
II.8. Etude statistique	38

Chapitre 02. Résultats et interprétation

I. Variation mensuelle du poids corporelle.....	39
II. Les tests de comportements	39
II.1. Test de "Konzielas inverted screen".....	39
II.2. Test de champ ouvert "open field"	40
II.3. Test de La chambre éclairé/sombre "light/dark box".....	41
III. Les Résultats de l'évaluation des différents paramètres du stress oxydatif.....	42
III.1. Les résultats de différents paramètres de stress dans le cerveau	42
III.1.1. L'évaluation de tau de GSH cytosolique.....	42
III.1.2. L'évaluation de tau de l'MDA cytosolique dans le cerveau.....	43
III.1.3. Evaluation des paramètres enzymatiques de stress.....	44
III.1.3.1. Evaluation des paramètres de stress enzymatiques dans le cytosol du neurocytes.....	44
III.1.3.2. Evaluation des paramètres de stress enzymatiques dans la mitochondrie du cerveau.....	45
III.2. Résultats de l'évaluation des différents paramètres du stress oxydant dans le foie et les reins	46
III.2.1. Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)	46
III.2.2 Estimation de l'activité de la glutathion-S- transférase (GST)	47
III.2.3 Détermination du taux du glutathion réduit (GSH).....	47
III.2.4 Estimation de la peroxydation lipidique (MDA cytosolique).....	48
VI.3. Résultats de l'évaluation des paramètres biochimique du sang.....	49

Chapitre 03. Discussion

. L'effet des métaux lourds sur le poids corporel	51
II. Effet des métaux sur le statut redox dans le cerveau.....	52
III. Effet des métaux sur le comportement.....	55
IV. Effet des métaux lourds sur le foie.....	56
IV.1. Altération du statut redox cytosolique.....	56
IV.2. Dysfonctionnement hépatique	58
IV.2.1. Augmentation du taux des transaminases (TGO et TGP).....	58
V. L'effet des métaux lourds sur les reins	59
V.1. L'altération du statut redox cytosolique rénal.....	59
V.2. Evaluation de la fonction rénale.....	59
Conclusion.....	61
Références bibliographiques.....	63

Annexes

Liste des figures

Figure 01: Structure fonctionnelle des reins.....	05
Figure 2. La production et la consommation mondiale de certains métaux toxiques pendant 1850-1990	08
Figure 3. les métaux lourds et l'équilibre entre la production de ROS et la défense subséquente présentée par les antioxydants.....	09
Figure 04. Les étapes de la biosynthèse de l'hém.....	13
Figure 05: Mécanisme et cibles possibles pour le stress oxydant Pb-induit.....	14
Figure 06: l'effet de plomb sur le métabolisme de GSH.....	16
Figure 07 : Mécanismes cellulaires de la toxicité Cd-induite et rôle central dans l'effort oxydant.....	16
Figure 08: illustration de mécanisme de la toxicité induit par le Cd.....	19
Figure 09 : La mort autophagique de cellules par hépatotoxicité cadmium-induite...	22
Figure 10: Mécanisme inflammatoire induit par l'activation des cellules Kupffer et les macrophages par l'intermédiaire des ROS cadmium induits.....	22
Figure 11: Schéma représente le transport de Cd et son rôle dans la néphrotoxicité	24
Figure 12: Les voies de signalisation Cd-induite en cellules endothéliales.....	26
Figure 13 : illustration de dispositif servant au test de l'OF.....	30
Figure 14 : illustration de dispositif utilisé dans le test de la chambre éclairé/obscur	31
Figure 15: schéma indique le test de "Konzielasinvertedscreen".....	32
Figure 16 : Réaction du MDA avec 2 TBA.....	34
Figure 17 : Réaction de GSH avec DTNB.....	35

Figure 19: La variation du taux de la force musculaire par le teste de Kondziela'sinvertedscreenchez les souris traités par différentes métaux lourds (Pb, Cd et la mixture) par rapport au témoin.....	40
Figure20 : la variation de l'activité locomotrice horizontal (ambulation) et vertical (rearing) chez les souris exposés aux métaux lourds (cd, Pb et la mixture) par rapport au témoin évalué par le test de l'OF.....	41
Figure 21 : variation du taux de GSH dans le cytosol de cerveau.....	43
Figure 22: variation du taux de l'MDA dans le cytosol de cerveau.....	44
Figure 23: Variation du taux de catalase cytosolique chez les différents groupes de souris exposés aux métaux lourds.....	46
Figure 24: Variation du taux de GST cytosolique chez les différents groupes de souris exposées aux métaux lourds.....	47
Figure 25 : Variation du taux de GSH cytosolique dans le foie et les reins chez les différents groupes de souris exposés aux métaux lourds.....	48
Figure 26 : Variation de MDA cytosolique dans le foie et les reins chez les différents groupes de souris exposées aux métaux lourds.....	49

Liste des tableaux

Tableau1 : Les doses sélectionnées.....	28
Tableau 2 : Les variations mensuelles du poids corporel des souris.....	39
Tableau 3 : Représentation des variations de temps passé par la souris dans chambre sombre et la chambre éclairé.....	42
Tableau4 : Variations de l'activité des enzymes antioxydants dans le cytosol de cerveau.....	44
Tableau5 : Les résultats obtenus de l' activité enzymatique de la SOD et de la catalase mitochondrial.....	45
Tableau 06 : Variation des paramètres biochimiquesdu sang chez les différents groupes de souris exposées aux métaux lourds.....	50

Liste des abréviations

ACh : AcétylCholine

AchE: acétylcholineestérase

AD : alzheimer disease

ALA : Acide δ -aminolévulinique

ALAD : Acide δ -aminolévuliniquedéhydratase

ALAS : Acide δ -aminolévulinique synthétase

ALP : Alkaline phosphatase

ALT : Alanine aminotransferase

AST : Aspartateaminotransferase

CAT: Catalase

Cd: Cadmium

CEE: Communauté Economique Européenne

DTNB : 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)

EFSA : European Food Safety Authority

eIF 2 α : Eukaryotic Initiation Factor 2 α

G-Cd: groupe-cadmium

G-Mixt: groupe-mixture

G-Pb: groupe-plomb

GPX: Glutathion peroxydase

GSH: Glutathion

GSSG: Glutathion oxydée

GST: Glutathion S- transférase

Hg: Mercure

MDA: Malondialdehyde

MTs: Méthionine

OFT : open field test

PD :parkinson disease

ROSm :mitochondrial reactive oxygen species

SIRT3: Sirtuine 3

SNC : système nerveux central

SOD: Superoxydedismutase

TGO : Glutamoxaloacétique

TGP : Glutamique pyruvique

TP: Tubules proximaux

UPR : Unfolded protein Respons

INTRODUCTION

Introduction

A la fin de XIXe siècle, il y a eu une augmentation exponentielle des activités industrielles et urbaines, ceci a conduit à des décharges élevées de produits toxiques qui sont libérés dans l'environnement (**Cobbinaaet al., 2015**), conduisant à une vaste pollution de ce dernier, notamment par les métaux lourds (**AL-Attar, 2011**). Cet état de faits pourrait menacer gravement la population humaine dont les derniers rapports ont montré qu'un pourcentage élevé de métaux toxiques peuvent achever le corps humain via la consommation des aliments contaminés, ce qui entraîne à long terme des perturbations physiologiques (**Lion and Olowoyo, 2013 ; AL-Attar, 2011**).

Parmi les matrices alimentaires à risques, les poissons occupent une position importante dans le régime alimentaire chez la population humaine, en raison de leur richesse en protéines à haute valeur biologique à côté de certains minéraux et vitamines et une gamme d'autres nutriments importants, y compris les acides gras polyinsaturés à longue chaîne ω_3 qui semble jouer plusieurs rôles utiles pour la santé et particulièrement chez les adultes. En effet, la consommation des poissons est de grande vertu préventive, surtout les poissons gras qui abaissent le risque de mortalité par les maladies coronariennes (**FAO/WHO, 2010**). Paradoxalement, la consommation de ce produit aquatique peut menacer énormément la santé humaine à cause de leur capacité de stocker des xénobiotiques potentiellement toxiques (**Sidhu et al., 2003**) et surtout que les milieux aquatiques sont assez vulnérables à la pollution dont ils sont continuellement exposés via un large éventail de composés xénobiotiques tels que les métaux d'origine anthropogénique (**Begum, 2004 ; Padmanabha et al., 2015**).

Le plomb et le cadmium sont considérés parmi les métaux les plus toxiques et les plus répandus dans l'environnement (**Patra et al., 2011**). La consultation de la documentation disponible affiche que plusieurs articles scientifiques ont mentionné que la toxicité de ces deux polluants est susceptible d'affecter le cerveau (**Kaoud and Mekawy, 2011 ; Agnihotri et al., 2015 ; Mason et al., 2014**). Le SNC est un organe vital qui assure plusieurs fonctions critiques dans l'organisme et donc un effet neurotoxique pouvant altérer l'ensemble des fonctions organiques chez l'homme et l'animal. Le passage des métaux lourds par le foie et les reins lors de leur biotransformation et leur élimination avancent ces organes en tête des organes cibles de ces métaux également, d'ailleurs il est bien connu que le rein est la cible traditionnelle de la toxicité chronique de Cd (**Jarup, 2003**).

Ainsi, à la lumière de cet état d'arts qui avancent des évidences scientifiques qui ne sont pas toujours exhaustives, voire insuffisantes. Cette présente étude va axer sur l'évaluation, d'une manière prioritaire, la neurotoxicité de plomb et de cadmium et leur mixture à long terme en utilisant des microdosages de ces métaux (doses évaluées dans les poissons du barrage de Bni Harouin, résultats non publiés), sur un modèle expérimental de souris adultes ayant pour but d'explorer l'intégrité du système oxydatif tant cytosolique que mitochondrial et également une étude neurocomportementale afin d'évaluer l'impact des lésions neuronales éventuelles sur le comportement de l'animal. Par ailleurs, cette étude va être élargie également à d'autres organes de grandes fonctions en l'occurrence le foie et les reins. Pour cela, une exploration de l'homéostasie redox sera entreprise en plus dans le foie et les reins dans le cytosol suivie par une évaluation de la fonction hépatique et rénale en appliquant des méthodes biochimiques.

Ce manuscrit est constitué de deux parties, la première est une synthèse bibliographique contient deux chapitres, le premier chapitre, la physiologie des organes visés, et le seconde résume la toxicité des métaux étudiés, la deuxième partie c'est la partie pratique, quant elle est constitué de trois chapitres, dans le premier nous avons décrit le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce mémoire, le deuxième chapitre présente les résultats obtenus ainsi que leur interprétation, le troisième et le dernier chapitre constitue une discussion. En fin le mémoire est conclure par une conclusion et des recommandations.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Neurophysiologie du cerveau

La neurophysiologie étudie la manière dont fonctionne le système nerveux chez un sujet normal et en bon santé. Le système nerveux est un système assez complexe, dont le fonctionnement correct dépend aussi bien du fonctionnement de ses composants élémentaires ainsi que de leurs connexions et leur organisation (**Vibert *et al.*, 2005**).

Le système nerveux central comporte l'encéphale (le cerveau) et la moelle épinière. Il a été estimé qu'il y a 100 milliards de neurones dans le cerveau qui sont assemblés en réseaux complexes qui nous permettent de régler d'une façon inconsciente notre milieu intérieur, de ressentir des émotions, de contrôler volontairement nos mouvements, d'être conscient de notre corps et de notre environnement et de réaliser des processus cognitifs supérieurs comme la pensée et la mémoire (**Sherwood, 2007**).

D'un point de vue cytotologique, le cerveau se compose de deux types de cellules: les neurones qui envoient / reçoivent des messages du corps cellulaire et les cellules gliales qui protègent les neurones. Les cellules gliales sont subdivisées en quatre types qui sont les microglies, les oligodendrocytes (Cellules productrices de myéline), cellules épendimaires et les astrocytes. La transmission synaptique se réfère à la propagation de l'influx nerveux d'un neurone à un autre par le biais des jonctions entre les neurones (synapses), ceci est rendu possible à travers la libération de neurotransmetteurs chimiques, tels que la dopamine, l'adrénaline, la noradrénaline ou la γ -Amino-butérique (GABA). Ensuite, les neurotransmetteurs se lient à des récepteurs spécifiques à la surface des cellules post-synaptiques. Du point de vue structurelle, le cerveau contient trois principales parties: le cerveau, qui contrôle le mouvement volontaire, la pensée, l'apprentissage, le raisonnement, les émotions, le jugement, la mémoire, les sens et le langage ; Le cervelet, qui contrôle le mouvement du corps d'une façon coordonnées; et le tronc cérébral (**Sanders *et al.*, 2009**)

I.2. Les désordres neurologiques

Les statistiques qui s'intéressent à la fréquence de la propagation des désordres neurologiques et psychiatriques enregistrent une augmentation assez importante dans les dernières années allant de 1990 jusqu'à 2010, les troubles mentaux et du comportement ont augmenté de plus de 37%, La maladie de Parkinson a augmenté de 75%, la maladie d'Alzheimer est doublée,

l'autisme a augmenté de 30% et l'hyperactivité avec déficit de l'attention (TDAH) a augmenté de 16% (**Lehouelet al.,2016**).

II. Physiologie hépatique

Le foie est une glande volumineuse annexée au tube digestif et remplit plusieurs fonctions essentielles et complexes de synthèse et de transformation de diverses substances. Il se situe entre les poumons et le diaphragme, il comprend deux éléments principaux : Un volumineux lobe droit et un petit lobe gauche. Chacun est constitué des petites unités fonctionnelles ; les lobules. Le sang passe à travers ces lobules et subit des changements importants dans sa composition (**Morin, 2006 ;Elaine, 2008**).

Les principales fonctions du foie sont : le métabolisme des aliments après leur digestion, le recyclage des globules rouges et l'élimination des substances toxiques du sang. Donc le foie joue un rôle double:

Métabolisme hépatique: Les hépatocytes jouent un rôle particulièrement important dans le métabolisme des glucides, des lipides et des protéines, elles assurent le maintien de la normoglycémie par une fonction glycogénique. Les hépatocytes emmagasinent une partie des triacylglycérols, métabolisent les acides gras pour produire de l'ATP et retirent le groupement amine des acides aminés en donnant la possibilité de ces derniers à servir pour la production de l'ATP ou à être transformés en glucides ou en lipides (**Gerard and Bryane, 2009**).

Élimination des déchets : Le foie assure également l'élimination des déchets endogènes tels que la bilirubine produite par le catabolisme de l'hème, la synthèse d'urée à partir de l'ammoniaque issue du catabolisme des protéines et son élimination par voie biliaire et l'élimination des xénobiotiques comme les médicaments et les toxiques (**Alian,2005**). Il existe d'autres fonctions non négligeables telles que la filtration de certaines substances du sang afin qu'elles ne s'accumulent pas et ne causent pas des dommages dans le sang et l'organisme. Ces substances peuvent provenir de l'intérieur ou de l'extérieur du corps, la production de la chaleur pour le maintien de la température corporelle, le stockage des vitamines et des minéraux et aide aussi le corps dans la production des facteurs de coagulation (**Gerard and Bryane, 2009**).

III. Physiologie rénale

Les reins sont des organes vitaux qui comportent deux zones bien distinctes :

La médullaire est formée par 8 cônes (4 à 18), appelés les pyramides de Malpighi dont l'extrémité interne dénommée papille, fait saillie dans les calices et dont la base externe jouxte le cortex périphérique.

Le cortex est une coiffe de base des pyramides de Malpighi et s'insinue entre les pyramides constituant les colonnes de Bertin. Les pyramides de Malpighi envoient des rayons médullaires appelés pyramides de Ferrein dans le cortex appelé labyrinthe (**Gerard and Bryane, 2009**).

Le néphron est l'unité fonctionnelle du rein. Chaque rein comporte environ 1300 000 néphrons qui contient un glomérule qui est un bouquet de capillaires, et un tubule rénal dont l'extrémité fermée est évasée pour former de coupe (figure 01) (**Eliane, 2008 ; Zhuo and Li, 2013**).

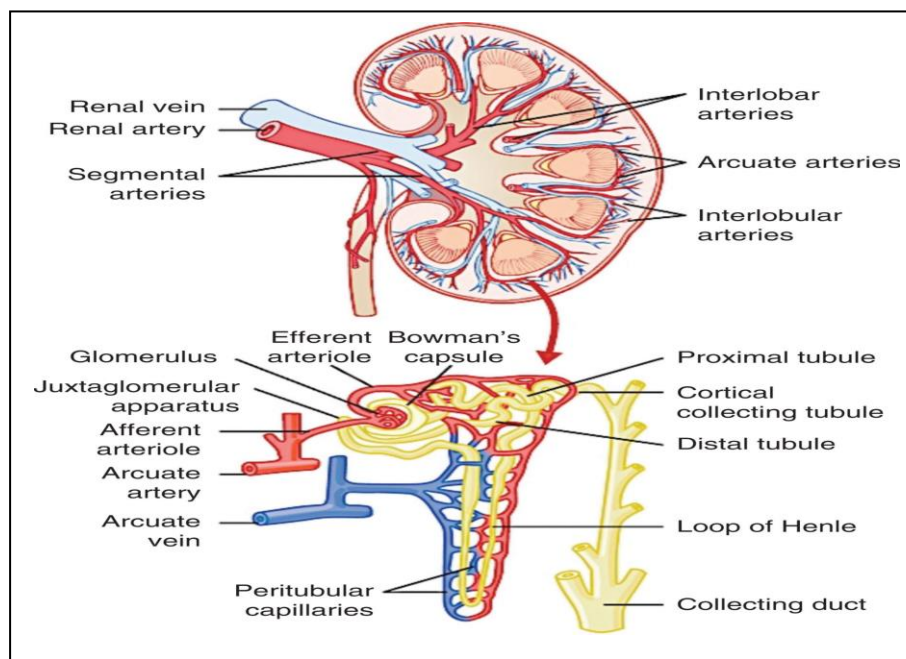


Figure 01: Structure fonctionnelle des reins (**Chade, 2013**).

Le rein est un organe spécial qui joue un rôle central dans le maintien du volume et de la composition ionique des fluides de l'organisme (**Chade, 2013**). Cette homéostasie est assurée par la filtration glomérulaire et les modifications tubulaires (réabsorption et sécrétion). Les modifications du débit urinaire et celles de la composition des urines traduisent les capacités du rein à s'adapter à une situation physiologique ou pathologique donnée (**Sibernagl and Despopoulos, 1996**). Le rein est la principale voie d'excrétion des déchets métaboliques (potentiellement toxiques comme l'urée, l'acide urique, la créatinine et l'acide oxalique) et des produits chimiques exogènes (toxines, médicaments) (**Habukaetal.,2014**). Il participe également au catabolisme des protéines de faible poids moléculaire et à l'inter conversion métabolique (néoglucogénèse, métabolisme lipidique) qui régule la composition des fluides biologiques. Enfin, le rein participe aux fonctions endocrines de l'organisme. Il est le site de production de nombreuses hormones (**Eliane, 2008**).

1. Les métaux lourds

Les métaux lourds sont considérés parmi les principaux polluants environnementaux et sont définis comme étant des éléments métalliques ayant relativement une densité supérieure à 5 g/cm^3 et un poids atomique compris entre 63,5 et $200,6\text{ g mol}^{-1}$ (Jarup,2003; Jaishankar *et al.*, 2014 ; Gumpua *et al.*,2015). En raison de leur haute toxicité, les métaux lourds sont l'objet d'une préoccupation croissante écologique et globale concernant la santé publique associée à la contamination de l'environnement et des matrices alimentaires durant ces dernières années. (Khillare *et al.*, 2015).

Malheureusement les métaux lourds sont des polluants non-biodégradables, largement distribués et sont bioaccumulés et même bioamplifiés dans les organismes vivants et dans la chaîne trophique, ce qui porte préjudice à la santé humaine (Akanet *et al.*, 2012 ; Gumpua *et al.*, 2015).

Les sources de contamination de l'environnement par ces polluants sont diverses, elles comprennent les sources géogéniques, industrielles, agricoles, pharmaceutiques, les effluents domestiques et les sources atmosphériques (Khillare *et al.*, 2015). Bien qu'il soit reconnu que les métaux lourds ont des effets néfastes sur la santé, l'exposition humaine a également augmenté en raison d'une vaste utilisation de ces polluants d'une manière exponentielle tant dans l'industrie que dans le domaine agricole et domestique, en l'occurrence dans les zones de sources ponctuelles telles que les mines, les fonderies et autres industries (Jaishankar *et al.*,2014 ;Tchounwou *et al.*, 2014 ; Khillare *et al.*,2015). La figure 2 montre la production et la consommation mondiale de certains métaux toxiques depuis 1850 jusqu'à 1990 (Nriagu, 1996).

L'exposition aux métaux croissante chez l'homme peut avoir lieu par ingestion, inhalation, contact cutané et l'exposition professionnelle (Tasalet *et al.*,1999 ; Churget *et al.*,2003). Dans les systèmes biologiques, les métaux lourds sont connus pour être des éléments potentiels susceptibles d'affecter des organites et des composants cellulaires tels que les membranes cellulaires, les mitochondries, les lysosomes, le réticulum endoplasmique, les noyaux et les enzymes impliquées dans le métabolisme et la détoxification (Khillare *et al.*, 2015).

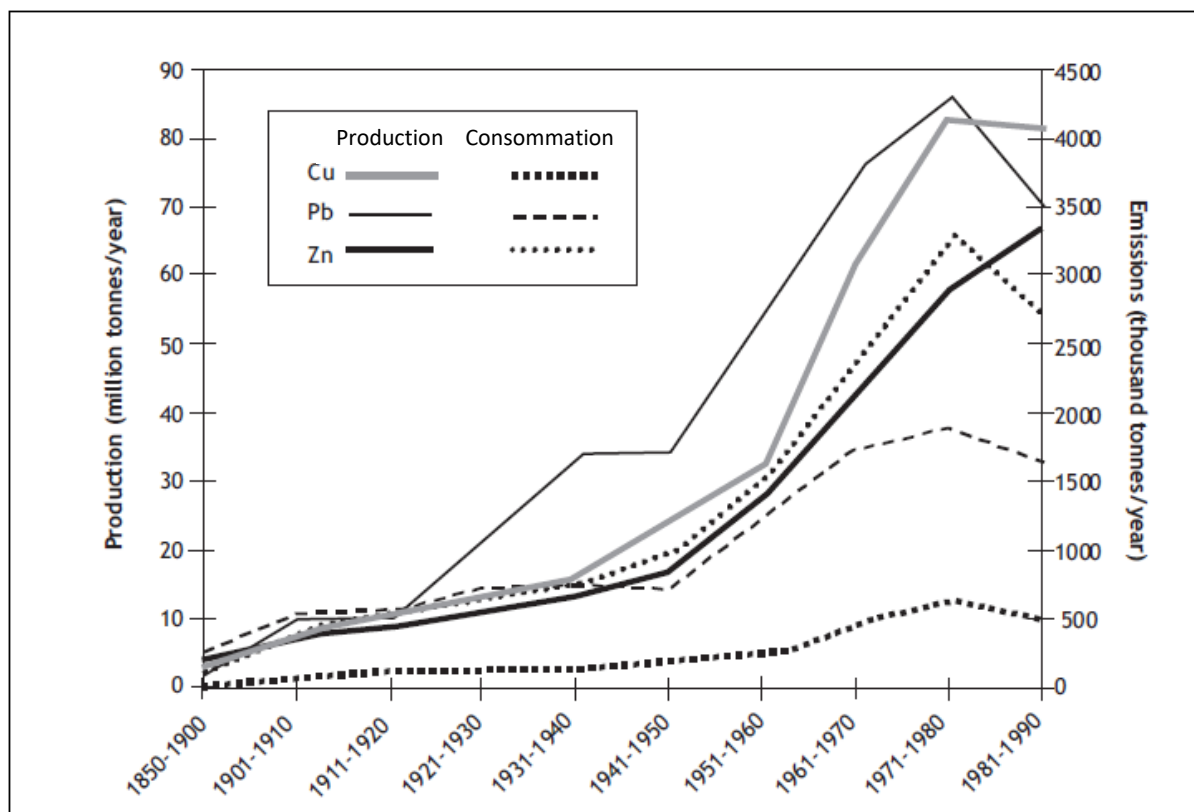


Figure 2. La production et la consommation mondiale de certains métaux toxiques durant la période 1850-1990 (Nriagu, 1996).

La toxicité des métaux lourds est due à leur capacité à se lier à des sites protéiques non spécifique en déplaçant les métaux d'origine de leurs sites de liaison naturels, provoquant ainsi un dysfonctionnement des cellules, en plus, contrairement aux autres molécules, les métaux lourds se caractérisent par un stockage prolongé dans les organes excréteurs, ce stockage est soutenu par quelques protéines riches en cystéine, par exemple les métallothionéines. Certaines manifestations toxiques de ces métaux sont attribuées en premier lieu au stress oxydatif où plusieurs recherches antérieures ont indiqué que les métaux lourds sont capables de générer les radicaux libres oxygénés (ROS) et ont la faculté d'affaiblir le mécanisme antioxydant de la cellule (figure 3). En outre, les métaux lourds peuvent modifier directement et / ou endommager l'ADN (Boweret *al.*, 2005 ; Wyly *et al.*, 2014 ; Gumpua *et al.*, 2015) en réduisant la capacité de sa réparation cellulaire, soit par une régulation négative des gènes de réparation, ou bien par une inhibition directe des enzymes impliquées (Whiteside *et al.*, 2010).

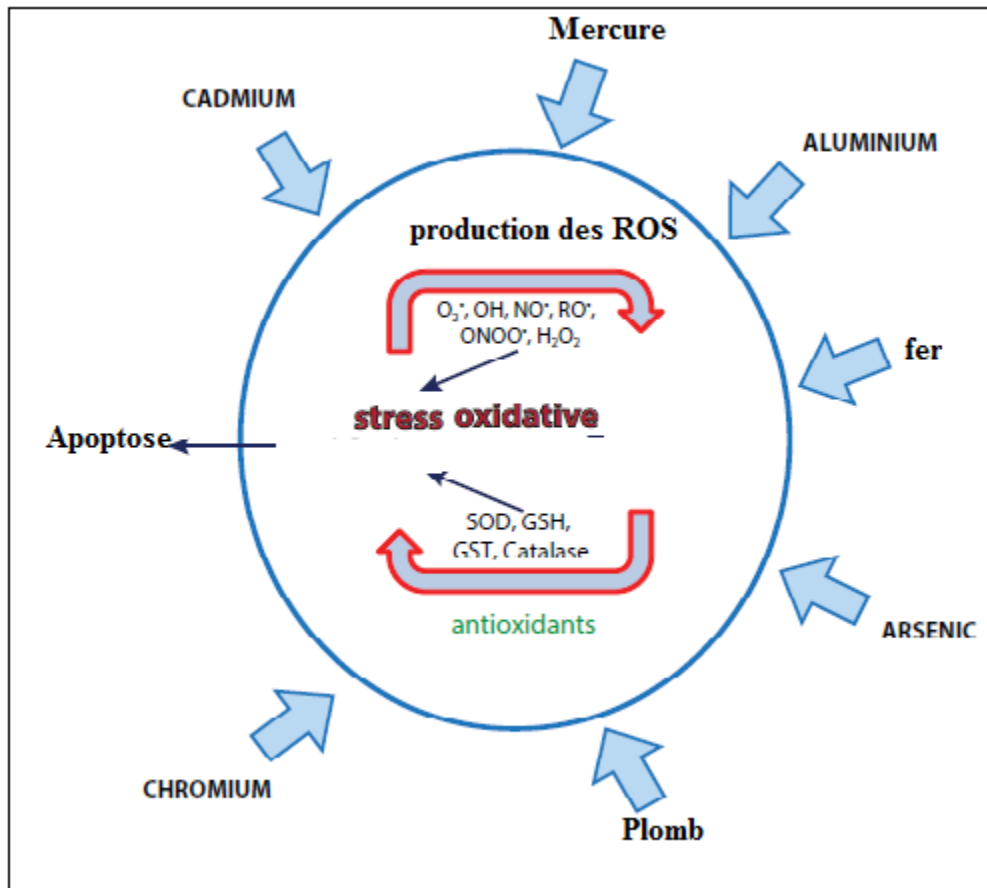


Figure 3. les métaux lourds et l'équilibre entre la production de ROS et la défense subséquente présentée par les systèmes antioxydants (Jaishankaret al., 2014.)

Le cadmium et le plomb sont considérés parmi les métaux les plus dangereux, même à des concentrations assez faibles. En effet, ils sont classés parmi les premiers 10 éléments dangereux pour la santé et l'environnement dans les listes de l'agence pour les substances toxiques et les maladies listées prioritaires des substances dangereuses « *Agency for Toxic Substances and Disease Registry Priority List of Hazardous Substances* » (Gumpuaetal., 2015).

I.1.Le cadmium

Contrairement à de nombreux métaux (cuivre, zinc, fer...), le cadmium (Cd) n'a aucun rôle métabolique connu et ne semble pas être biologiquement indispensable ou bénéfique pour le métabolisme des êtres vivants. Par contre, il est un polluant qui prend sa place dans la liste noire de la plupart des conventions internationales de pollutions en raison de sa cytotoxicité, sa génotoxicité, son potentiel de bioaccumulation et sa persistance (Gasmietal., 2010).

Le cadmium a été découvert comme un élément chimique en 1817 et son usage industriel était tout à fait mineur jusqu'à 50 ans après. Le premier cas lié à l'effet de l'exposition au cadmium sur la santé humaine, était les lésions observées au niveau des poumons des travailleurs exposés au Cd, publiés en 1938 (**Nordberg,2004**). Quelques années plus tard, en 1948, Friberg a signalé la présence de la protéinurie chez les travailleurs de l'industrie de la batterie de cadmium. Les années suivantes, les fractures osseuses pathologiques nommées ostéoporose et la douleur du serveur (nom de la maladie Itai-Itai) se sont produites après la deuxième guerre mondiale, à Toyama au Japon suite à l'exposition chronique au Cd en raison d'une contamination des rizières (champs de riz) irriguées par des eaux souillées, conduisant finalement à une épidémie (**Nairat et al., 2013**).

Actuellement les émissions de cadmium ont augmenté considérablement, l'une des raisons étant être que les produits sont rarement recyclés, mais souvent rejetés avec les ordures ménagères. Le tabagisme est une autre source importante d'exposition au cadmium(**Jarup, 2003 ; Gonçalves et al.,2012**), or, chez les non-fumeurs, la nourriture est la source la plus importante d'exposition au Cd. Des données récentes indiquent que même avec des doses fines, ce métal est capable de menacer la santé publique (**Järup, 2003**), à cause de sa longue demi-vie biologique (30 ans), entraînant de ce fait une accumulation presque irréversible dans les organes humains (**Loápezet al, 2003**).

I.2. Le plomb

Est un métal toxique naturellement présent dans l'écorce terrestre. Dans de nombreuses parties du monde, la généralisation de son usage a entraîné une importante contamination de l'environnement (**Attiaetal.,2013**). Il est considéré parmi les métaux les plus anciennement utilisés par l'homme. Historiquement, son utilisation a été connue depuis 40 000 ans avant Jésus-Christ (J.C) et même sa toxicité a été connue depuis longtemps à travers le saturnisme dont ses premières descriptions sont été enregistrées 400 ans avant J.C. À l'époque Romaine, les cas de saturnisme ont été très fréquents surtout chez les aristocratiques en raison de leur consommation de vin additionné d'acétate de plomb. La période entre le XVIII^e et XIX^e siècle est l'étape de développement industrielle qui a connu une large utilisation de ce métal ou celle-ci été associé en parallèle à une propagation dramatique des cas de saturnisme issu notamment de l'exposition professionnelle au plomb (**Garnier, 2005**).

Actuellement, l'intoxication par le plomb est sans doute bien documentée, mais toujours il constitue un problème majeur de la santé publique et environnemental. Ainsi, l'OMS a cru opportun de consacrer au plomb un colloque important en 1999 (**Poey and Philibert, 2000**), d'ailleurs la réglementation concernant l'usage de cet élément a été renforcée au cours des dernières années par les recommandations suivantes :

- 1948 : Interdiction du plomb dans les peintures (céruse);
- 1995 : Interdiction du plomb dans les canalisations;
- 1998 : Interdiction de l'usage du métal dans les soudures en contact avec les aliments;
- 2000 : Réglementation sur l'air, avec abandon de l'usage du plomb tétraéthyle dans l'essence;
- 2002 : le saturnisme est une maladie à déclaration obligatoire ;
- 2002 à 2013 : limitation de la teneur en plomb dans l'eau potable (respectivement inférieure à 25 µg/L et à 10 µg/L);
- 2004 : Toute plombémie supérieure à 100 µg/L chez l'enfant doit être déclarée ;
- 2007 : Diagnostic de la présence de plomb à effectuer dans les logements mis en vente (**Goullé, 2012**).

D'un point de vue toxicologique, en raison de sa demi-vie assez lente, l'exposition humaine au plomb, même à faibles doses, est responsable de graves problèmes de santé publique. Il se diffuse dans l'organisme pour atteindre le cerveau, le foie, les reins et les os. En particulier, chez les enfants de moins de 6 ans, le plomb peut leur causer des troubles neurologiques, hématologiques, gastro-intestinaux, reproductifs et immunologiques. Il est stocké dans les dents et les os (**Gilliset al., 2012**).

Chez l'homme, les voies d'exposition comprennent l'ingestion des aliments ou de l'eau potable contaminées par le plomb, inhalation en milieu industriel et contact cutané. Ses effets néfastes apparaissent après exposition dépendant de plusieurs facteurs, notamment; la dose, l'âge, stade de la vie chez la femme (enfants, lactation, ménopause), exposition professionnelle, durée de l'exposition, la santé et le mode de vie, et l'état nutritionnel de la personne exposée (**Sanders et al., 2009**).

II. Les métaux lourds et le stress oxydatif

Le stress oxydatif est impliqué dans l'étiologie de nombreuses maladies Humaines ainsi que dans la toxicité de nombreux xénobiotiques (**Luczak and Zhitkovich, 2013**). Il affecte de nombreuses composantes cellulaires, telles que l'ADN, les lipides et les protéines, par des réactions d'oxydation modifiant ainsi leur structure. Ces modifications structurales produisent des changements significatifs dans la fonction et peuvent conduire à la pathogenèse. Des études récentes ont montré que les métaux tels que le fer, le cuivre, le cadmium, le chrome, le plomb, le mercure, le nickel et le vanadium produisent des espèces réactives de l'oxygène, entraînant une peroxydation lipidique accrue, un appauvrissement des sulfhydryls, une altération de l'homéostasie du calcium et enfin des dommages à l'ADN (**Méndez-Armenta and Rios, 2007**).

La génération des ROS après l'exposition chronique à ces métaux est liée à la capacité de ces derniers à exister sous différents états d'oxydation. En effet, les cations d'éléments comme le fer, Cu, Cr ou Mn sont capable de céder un ou plusieurs électrons susceptibles de réduire l'oxygène et ses dérivés. Les plus communes de ces réaction sont les réaction de fenton, par ailleurs, même des métaux qui n'existent que sous un seul état d'oxydation tel que le Cd et Pb, par exemple peuvent induire une accumulation des ROS par trois mécanismes:

- La perturbation de certaines voies métaboliques
- La déficience et l'inhibition des antioxydases telles que la SOD, la CAT et la GPx
- L'épuisement du stock de molécules antioxydants comme l'ascorbate, le glutathion, la vitamine E, ... (**Nair et al., 2013**).

II.1. Le stress oxydatif induit par le plomb

L'activité pro-oxydante du plomb a été étudiée et démontrée dans de nombreuses recherches. Ce métal lourd joue *in vitro* un rôle catalyseur des réactions de peroxydation lipidique, après son incubation avec l'acide arachidonique. Le produit final de ce stress oxydatif est le MDA qui augmente proportionnellement au nombre des doubles liaisons des acides gras (**Patraet al. 2011**). Par ailleurs, le mécanisme exacte, *in vivo*, de l'induction de stress oxydatif par le Pb est connu par la perturbation de la voie biosynthétique de l'hème (figure 04) en inhibant certaines enzymes essentielles telles que l'acide δ -amino lévulinique déshydratase (ALAD), une enzyme cytosolique qui catalyse la formation du porphobilinogène de l'acide δ -aminolévulinique; l'acide aminolévulinique synthétase (ALAS), une enzyme mitochondriale qui catalyse la formation de l'acide aminolévulinique,

mais son effet sur ALAD est plus profond son effet inhibiteur sur cette enzyme a été employée médicalement pour mesurer le degré d'empoisonnement de Pb. L'inhibition d'ALAD a pour conséquence l'accumulation de l'acide δ -aminolévulinique(ALA)(Sharma *et al.*, 2011; Flora *et al.*, 2012 ; Agrawal *et al.*, 2014). Il a été reporté que l'ALA, lors de l'exposition chronique au Pb, induit la production des ROS tels que le superoxyde et peroxyde d'hydrogène (Kansalet *al.*,2011).Ainsi, l'exposition prolongée au Pb s'accompagne d'une augmentation de la production des dérivés actifs de l'oxygène et l'inhibition de systèmes de défense antioxydants tels que la SOD et la CAT. La diminution de la concentration en SOD réduit la disposition du radical superoxyde, tandis que la réduction de la CAT altère le balayage du radical superoxyde. Le Pb peut également remplacer les ions de zinc qui servent de cofacteurs importants à ces enzymes (Flora *et al.*, 2012 ; Sharma *et al.*, 2011).

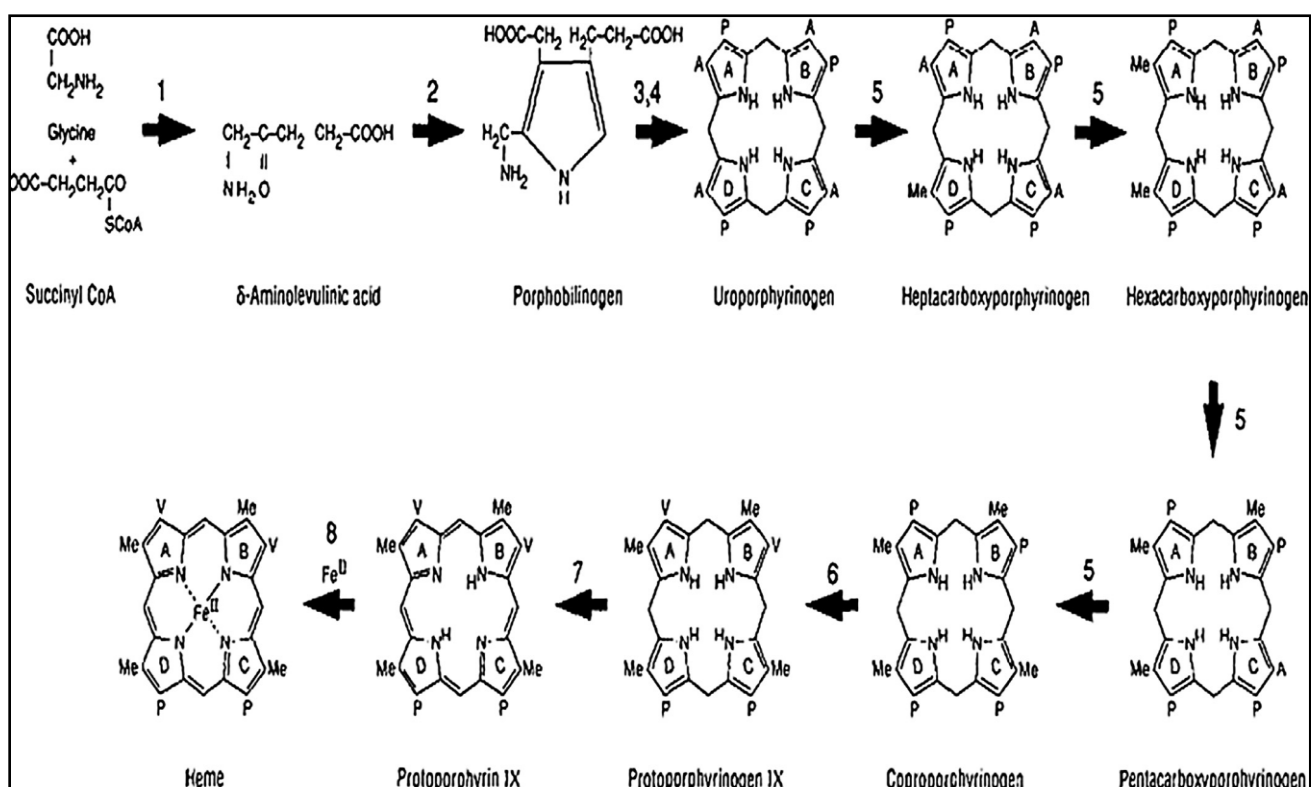


Figure 04. Les étapes de la biosynthèse de l'hème catalysés par (1) d-amino levulinic acidsynthetase (ALAS), (2) ALA déhydratase (ALAD), (3) uroporphyrinogen I synthetase, (4) uroporphyrinogen III cosynthetase, (5) uroporphyrino gendecarboxylase, (6) corporphyrinogenoxidase, (7) protoporphyrinogenoxidase, et (8) ferrochelatase(Woodset *al.*,1991).

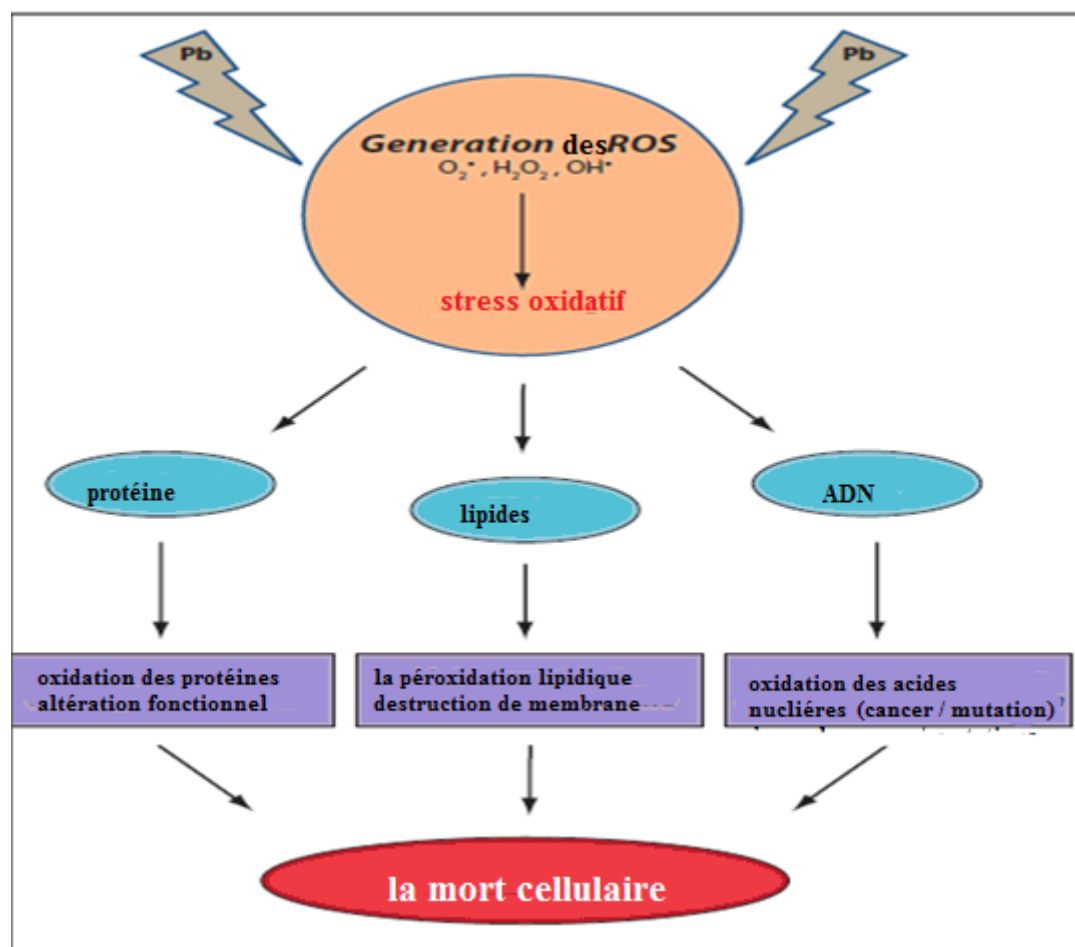


Figure 05: Mécanisme et cibles du stress oxydant induit par le Pb (Flora *et al.* 2012).

Zhai et ses collaborateurs(2015) ont démontré la diminution de l'activité de Cu-Zn-SOD, causée par l'interaction entre le Pb et le cuivre, un métal nécessaire au fonctionnement de l'enzyme SOD cytosolique. Une autre possibilité résultant en l'épuisement des réserves antioxydantes sous l'influence du plomb est l'inhibition du métabolisme de GSH, c'est un antioxydant important pour éliminer les radicaux libres. Le glutathion existe sous la forme réduite (GSH) et oxydée (GSSG). Il peut être régénéré du GSSG par la glutathion réductase (GR) (figure 06). Dans des conditions normales, 90% du contenu total de glutathion existe sous la forme réduite (GSH) et environ 10% est sous la forme oxydée (GSSG). Dans des conditions de stress oxydant, la concentration de GSSG est beaucoup plus haute que celle de GSH, par ce que le Pb inactive le glutathion en se liant aux groupes sulfhydriques présents dans ce tri-peptide et/ou inhiber le GPx.

II.2. Le stress oxydatif induit par le cadmium

La toxicité du cadmium a été démontrée dans plusieurs organes. Elle est responsable de l'apparition des dommages tissulaires à travers l'induction d'un stress oxydant, par conséquent, ce dernier joue un rôle central comme mécanisme fondamental en pathologie induite par le Cd (**Patra et al., 2011**). En fait, les mécanismes exacts d'action du Cd semblent être multiples et les quatre principales hypothèses émises sont :

- 1- La liaison du Cd aux groupements sulfhydriles de certaines molécules comme le GSH (**Tarasub et al., 2012**).
- 2 - Il réduit aussi les défenses anti-oxydantes par inhibition des enzymes anti-oxydantes telle que la SOD, CAT et GPx. En raison de cette inhibition, la chaîne de transport d'électron devient fortement réduite ; des électrons sont transférés directement à l'oxygène disponible menant à la formation augmentée des espèces réactives de l'oxygène (ROS). Les ROS sont responsable des dommages cellulaires, de la peroxydation des lipides membranaire et la perte d'enzymes attachées aux membranes (**Liu et al., 2009**).
- 3- La capacité du Cd à remplacer le Fe. Ceci augmente la disponibilité de Fe libre dans les cellules et par conséquent l'induction du stress oxydant. Le fer à son tour produit les radicaux hydroxyles fortement préjudiciables (OH°) par l'intermédiaire de réaction de fenton (**Cuypers et al., 2010**).
- 4- D'un autre côté le Cd a un effet sur le déplacement d'autres métaux tels que le Fe et le Cu qui se lient normalement à des métalloprotéines en cédant la place au Cd, c'est pourquoi on constate une augmentation de leur concentration dans le sang, (figure 7) (**Klaassen et al., 2009**).

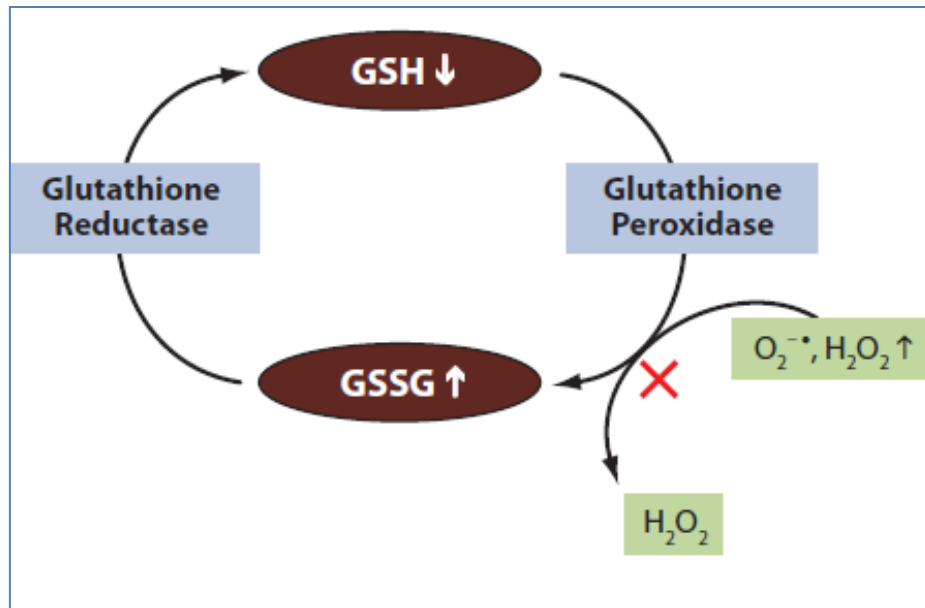


Figure 06: Effet de plomb sur le métabolisme de GSH (Flora *et al.* 2012).

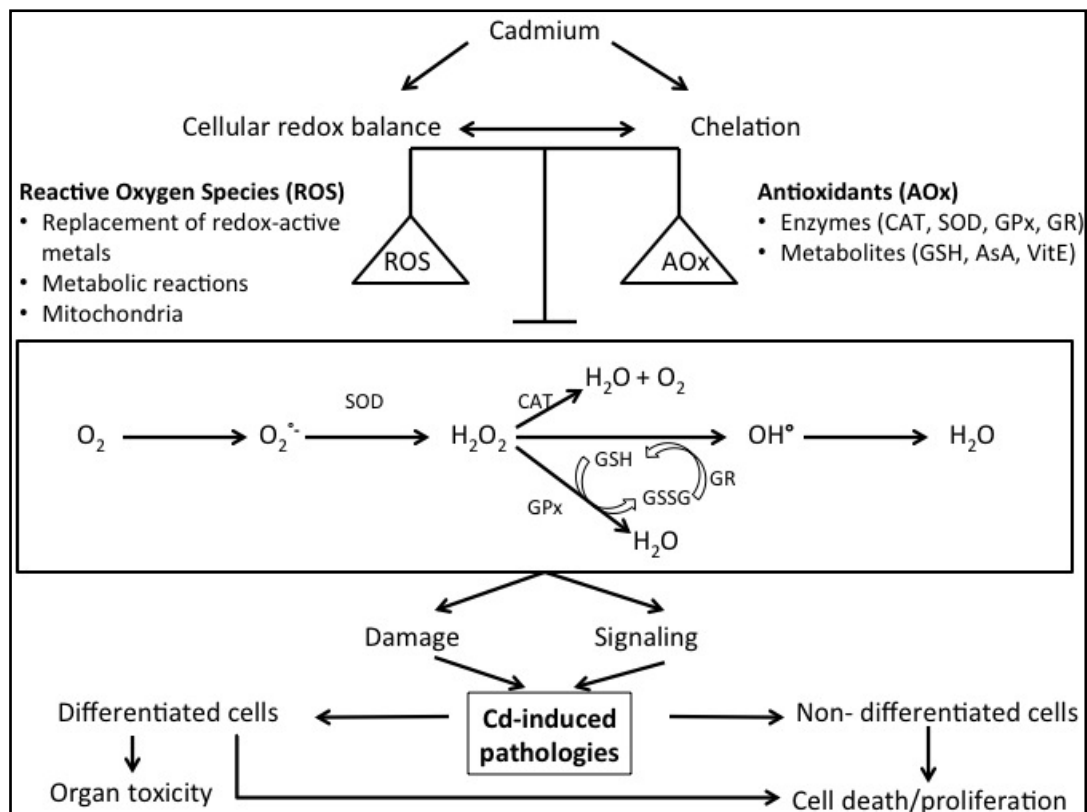


Figure 07 : Mécanismes cellulaires de la toxicité du Cd et son rôle central oxydant (Nair *et al.* 2013).

III. Neurotoxicité liée des métaux lourds

III.1. Neurotoxicité de cadmium

La consultation des données scientifiques au cours des dernières années indique que le Cd peut être un facteur étiologiques et pathologique pour les maladies neuro-dégénératives (**Agnihotri et al., 2015**). En raison de la haute perméabilité à travers la barrière hématoencéphalique, le cadmium affecte le système nerveux et provoque des troubles neurologiques tels que les troubles d'apprentissage et d'hyperactivité chez les enfants (**Loâpezetal., 2003 ; Chen et al., 2011**) .

Le parkinsonisme a été décrit par Okuda et al en 1997 après une exposition aigue au Cd. Une autre étude a montré des perturbations neurochimiques du système sérotoninergique chez les rats allaités par des rattes exposées au cadmium via l'eau potable au cours de la lactation (**Loâpez et al., 2003**). Dans les cellules neuronales, le cadmium induit un stress oxydatif, il est connu pour induire la peroxydation lipidique (LPO) en stimulant la production de l'anion superoxyde, qui à son tour s'implique dans la formation d'autres ROS qui épuisent par conséquent les systèmes antioxydants cellulaire (**Shagirthaet al., 2011**). Des études précédentes sur le cerveau des rats adultes exposés au Cd démontre la présence d'une peroxydation lipidique suite à la génération des ROS, conduisant de ce fait à la perte de l'intégrité membranaire et à l'altération des enzymes membranaire comme Na⁺/K⁺-ATPase (**Acan and Tezcan, 1995; Shuklaet al., 1996**).

Par ailleurs, il est convenu dans les résultats de plusieurs études que le Cd lui-même est incapable de générer directement les radicaux libres, cependant, il génère indirectement plusieurs espèces réactives de l'oxygène comme anion superoxyde (O₂^{·-}), peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et l'hydroxyle (OH) et les radicaux lipidiques, en remplaçant le Fe et le Cu dans diverses protéines cytoplasmiques et membranaires ce qui conduit ainsi à une augmentations de la quantité des ions de cuivre et de fer libres qui participe ensuite au stress oxydatif via les réactions de Fenton (**Concepción and Marisela, 2013**). Il est noté que la mitochondrie est une cible importante de la toxicité du cadmium, il y a une association entre l'accumulation de ce métal et l'inhibition de la chaîne respiratoire, la production des ROS et la libération du calcium mitochondrial (**Gobe et Crane, 2010**). Initialement le Cd se lie avec les groupements thiol des protéines de la membrane mitochondriale ce qui conduit à l'inhibition

de transfert des électrons et par conséquent, l'inhibition de la phosphorylation oxydative entraînant une diminution du taux de l'ATP mitochondriale et finalement l'altération du potentiel de la membrane mitochondriale, le Cd affecte également la régulation des gènes mitochondriaux tels que Hsp60 qui jouent un rôle dans la protection cellulaire et la mort cellulaire programmée (**Nair et al., 2013**). En outre, il est connu que la toxicité cellulaire de Cd est en partie liée à une altération de l'homéostasie du calcium intracellulaire, qui peut affecter la régulation de nombreuses fonctions neuronales (**Yuan et al., 2012 ; Méndez-Armenta and Rios, 2007**). En effet, le Ca^{+2} joue un rôle dans les processus d'excitation neuronale alors que, le Cd inhibe toutes les voies connues de l'influx de Ca^{2+} cellulaire ; il agit comme un ion compétitif de Ca^{2+} sur les canaux Ca^{+2} voltage-dépendant. Les modifications des mécanismes de libération des neurotransmetteurs sont également impliquées dans la neurotoxicité du Cd (**Méndez-Armenta and Rios, 2007**).

L'apoptose ou la mort cellulaire programmée, peut être déclenchée par une variété de stimuli physiologiques et pathologiques. Il s'agit d'un processus actif associé au rétrécissement cellulaire, cytoplasmique ou nucléaire, la condensation de chromatine, la libération du cytochrome-c des mitochondries, l'activation des caspases, la fragmentation et dégradation de l'ADN et enfin la décomposition de la cellule dans des corps apoptotiques (**Yuan et al., 2012**). Le Cd est connu pour être proapoptotique, capable d'induire l'apoptose par des mécanismes mal connus mais, il est probable que l'induction de l'apoptose s'effectue par des voies mitochondriales (**Méndez-Armenta and Rios, 2007**) ou par l'activation des voies de la signalisation cellulaires comme JNK, Erk1/2, p38 MAPK conduisant finalement à la mort cellulaire caspase-dépendante ou non. (**Nair et al., 2013**). La figure 8 résume les différents aspects mécanistiques de la toxicité du Cd.

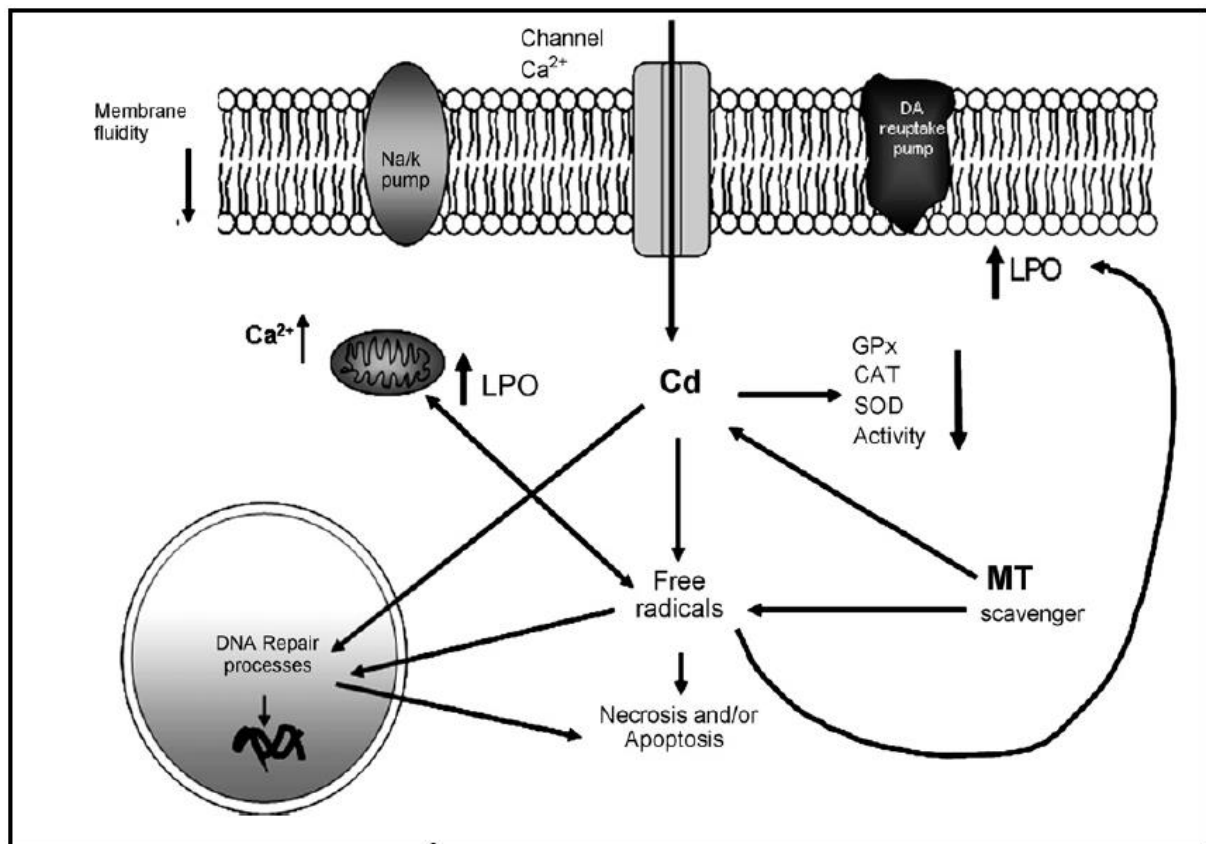


Figure 08: Illustration de mécanisme de la toxicité induit par le Cd (Bo and Yanli, 2013)

III.2. Neurotoxicité du plomb

Le plomb est un métal qui engendre des effets neurotoxiques soit à court ou à long terme, il est mentionné d'être capable d'engendrer des déficits neurophysiologiques et neuropsychologiques, le plomb peut exercer son effet soit d'une façon directe selon deux manières notamment morphologiques ou pharmacologiques ou bien d'une façon indirecte par l'interaction avec d'autres systèmes (Masonet *al.*, 2014).

- **Les effets morphologiques:** Consiste à des modifications qui apparaissent au cours de développement du système nerveux, en particulier de la période prénatale à l'enfance. Ces effets comprennent la perturbation des molécules clés pendant la migration neuronale et la différenciation.
- **Les effets pharmacologiques:** L'action du plomb sur le CNS comme agent pharmacologique qui interfère avec la libération de certains neurotransmetteurs,

perturbant ainsi le fonctionnement de certains systèmes tels que le système GABAergique, dopaminergique et cholinergique. Des études *in vitro* ont montré que le plomb inhibe la Na⁺ / K⁺ ATPase dans la membrane cellulaire, et donc interférant avec le métabolisme énergétique. Dans la cellule, le plomb aussi interfère avec la libération du calcium de la mitochondrie, entraînant ainsi la formation des espèces ROS, accélérant l'autodestruction des mitochondries par l'ouverture des pores géants mitochondriaux et donc l'augmentation de la perméabilité membranaire, et par conséquent il est impliqué dans les processus de mort cellulaire programmée (Masonet *al.*, 2014).

- **Les effets neurotoxiques indirects:** Sont les effets neurotoxiques issus de l'effet du plomb sur d'autres systèmes supportant le bon fonctionnement de système nerveux. Dans ce cadre le plomb intervient dans les perturbations des fonctions rénales et les fonctions de la thyroïde, il est aussi mentionné que le Pb provoque l'hypertension artérielle et l'épuisement de la vitamine D (Masonet *al.*, 2014).

IV. Hépatotoxicité liée aux métaux lourds

IV.1. Hépatotoxicité induite par le plomb

Le Plomb est un métal toxique omniprésent dans l'environnement qui induit un large éventail de dysfonctionnement dans le foie. Bien que le mécanisme exact de la toxicité induite par celui-ci n'a pas été complètement étudiée, les données cumulatives ont montré que le stress oxydatif joue un rôle essentiel dans sa toxicité (Kansaletal., 2011). La surproduction des espèces réactives de l'oxygène (ROS) induit des lésions hépatiques conduisant à une insuffisance hépatique, ce qui produit par conséquent une sécrétion élevée des enzymes sérique hépatique telles que l'alanine aminotransférase (ALT), aspartate aminotransférase (AST) et la phosphatase alcaline (ALP) (Sharma, 2011 ; Attiaet *al.*, 2013). Une perte de l'intégrité structurale et fonctionnelle des membranes cellulaires hépatiques par l'augmentation de la concentration de malondialdéhyde (MDA) hépatique est aussi observée (Attiaet *al.*, 2013 ; Pal *et al.*, 2013).

IV.2. Hépatotoxicité induite par le cadmium

Le foie est un organe cible, attaqué par les ROS mitochondriaux produits suite à une exposition chronique au cadmium (Amamouet *al.*, 2015 ; Pi *et al.*, 2015), principalement, l'anion superoxyde mitochondrial qui est impliqué dans la mort autophagique des cellules

hépatiques (Son *et al.*, 2011 ; Pi *et al.*, 2015). L'autophagie est une voie majeure de catabolisme lysosomal qui permet la dégradation des macromolécules, des organites endommagés et le recyclage du matériel cytoplasmique (Chiarelli and Roccheri, 2012 ; Lavallard and Gual, 2014 ; Malaviya *et al.*, 2014) pour maintenir l'homéostasie cellulaire et fournir des substrats pour la génération d'énergie cellulaire (Son *et al.*, 2011 ; Lavallard and Gual, 2014 ; Wang, 2015). Ce phénomène autophagique se déroule par la voie SIRT3/SOD2 qui assure l'homéostasie entre les ROSm et le flux autophagique. L'exposition au cadmium diminue l'expression et l'activité de SIRT3 (Sirtuin). Cette protéine à son tour augmente l'activité de SOD2 par l'augmentation de l'acétylation de celle-ci sachant que c'est un enzyme antioxydant éliminateur d'O₂[•], produit par le cadmium (figure 9) (Pi *et al.*, 2015).

L'inflammation induite par le cadmium dans le foie est un autre mécanisme important du stress oxydant. Les études documentées montrent que la surcharge en cadmium dans le foie est responsable de l'activation des cellules Kupffer et les macrophages résidents dans le foie afin de libérer les médiateurs inflammatoires tels que (IL-1 β , TNF- α , IL-6 et IL-8) (figure 10) (Liu *et al.*, 2009).

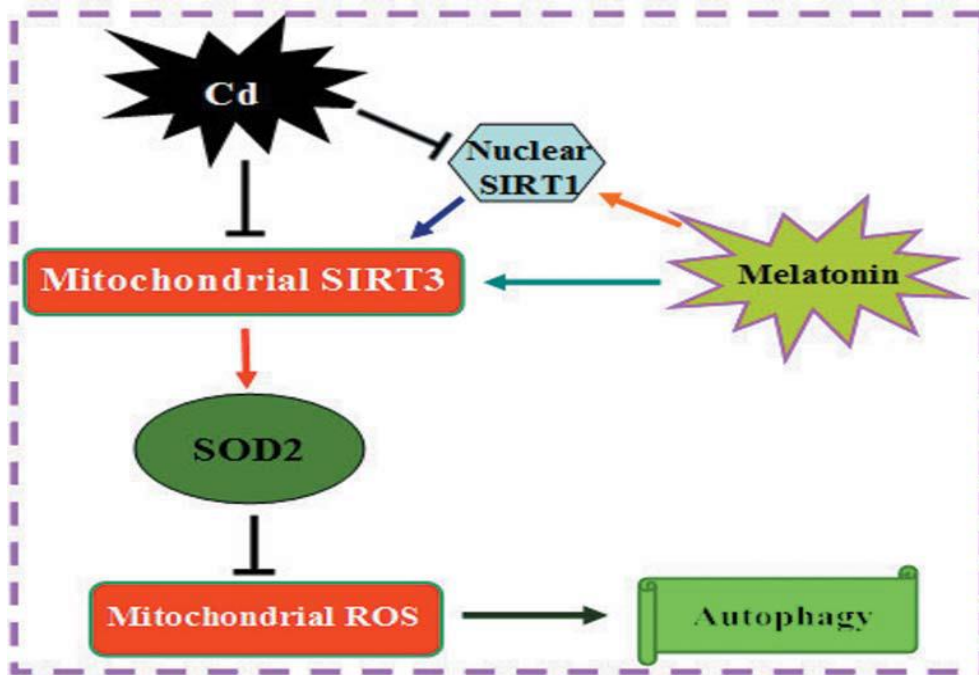


Figure 09 : La mort autophagique de cellules par hépatotoxicité cadmium-induite (Pi *et al.*, 2015).

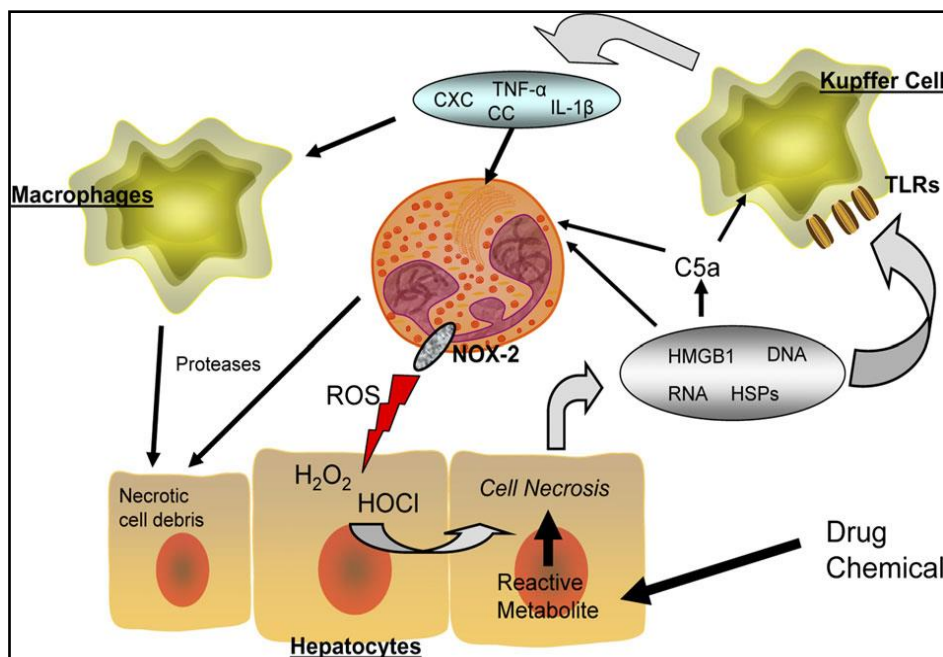


Figure 10: Mécanisme inflammatoire induit par l'activation des cellules Kupffer et les macrophages par l'intermédiaire des ROS induits par le Cd (Adams *et al.*, 2010).

V. Néphrotoxicité liée aux métaux lourds

V.1. Néphrotoxicité liée au Cadmium

L'augmentation de la charge corporelle tout au long de la vie par l'exposition chronique au Cd se fait surtout dans le foie et les reins par l'intermédiaire des métallothionéines (MTs) et d'autres transporteurs de Cd comme les transporteurs de Zn et de Cu (Jacques and Claude, 2000 ; Salińska *et al.*, 2011). La MT est une protéine intracellulaire qui a un double rôle lors d'intoxications chroniques par le Cd. Elle diminue généralement la toxicité de celui-ci et d'autres métaux en liant les cations métalliques électrophiles, qui autrement interagissent avec des molécules cibles par des attaques nucléophiles (Klaassen *et al.*, 2009 ; Cho *et al.*, 2010). Par ailleurs, le Cd se lie à la métallothionéine dans le foie, ensuite le complexe obtenu (Cd-MT) libéré dans la circulation sanguine est filtré au niveau des glomérules et réabsorbé dans les tubules proximaux (PT) par l'endocytose au niveau de cellules épithéliales. Dans les cellules tubulaires la MT est dégradée par les lysosomes en libérant le Cd, une partie de Cd absorbé peut être liée avec des groupements thiols de GSH et L-cystéine (Prozialeck and Joshua, 2012). En 2015, Yang et Shu démontrent la synthèse de MT dans les cellules tubulaires stimulée par le Cd présent dans le cortex rénal, mais quand celui-ci atteint des niveaux supérieurs à 200 µg/g, la synthèse de MT ne suffit plus et le niveau de Cd non lié est assez élevé ce qui engendre des dommages tubulaires (figure 11).

Le premier signe des lésions rénales causées par le Cd est habituellement un dysfonctionnement tubulaire, mis en évidence par l'augmentation de l'excrétion des protéines ayant un faible poids moléculaire suivie par d'autres signes, tels qu'une protéinurie glomérulaire qui se traduit par une excrétion urinaire des protéines de masse moléculaire plus élevée (ex: l'albumine) probablement due à des lésions glomérulaires.

V.2. Néphrotoxicité liée au plomb

La néphrotoxicité liée à l'empoisonnement par le plomb a été fréquemment rapportée dans les études épidémiologiques. La génération élevée des espèces réactives d'oxygènes après l'exposition au plomb peut entraîner la mobilisation systématique et l'épuisement de l'antioxydant des cellules de défense intrinsèque. Ces mécanismes entraînent une

accumulation des ROS nocifs responsables de l'apparition des dommages tissulaires et biomoléculaires au niveau rénal (Zhai *et al.*, 2015).

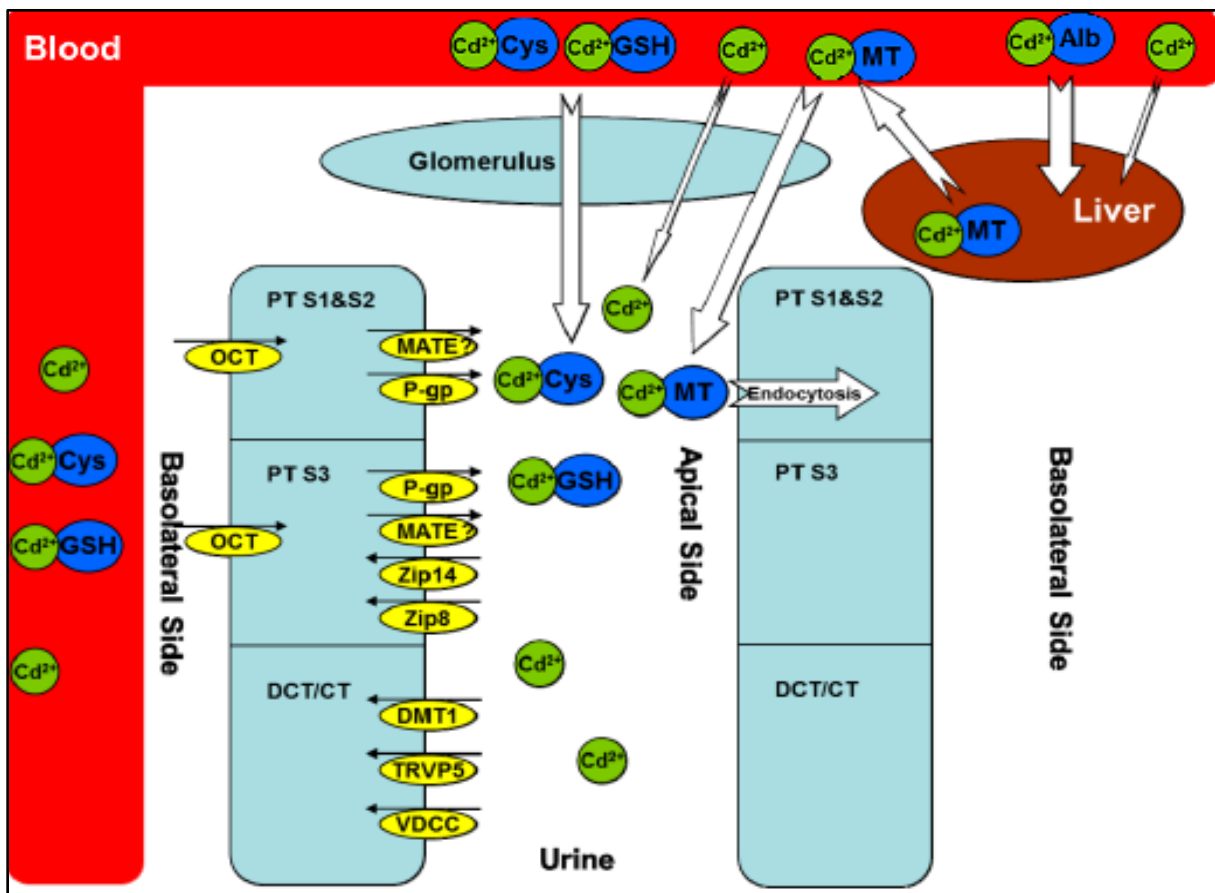


Figure 11: Schéma représentant le transport de Cd et son rôle dans la néphrotoxicité (Yang and Shu, 2015).

Les anomalies fonctionnelles rénales peuvent être de deux types :

- La néphropathie aiguë, d'une part, est caractérisée fonctionnellement par un mécanisme de transport tubulaire avec des corps d'inclusion nucléaire contenant des complexes des protéines et de plomb. Elle ne cause pas l'apparition des protéines dans l'urine mais peut provoquer l'excrétion anormale du glucose, des phosphates et des acides aminés.
- La néphropathie chronique d'autre part est beaucoup plus grave. Elle peut mener à des changements fonctionnels et morphologiques irréversibles dont les changements glomérulaires et tubulo-interstitiels responsables d'une hypertension rénale (Flora *et al.*, 2012).

VI. Effet génique des métaux lourds

VI.1. La génotoxicité liée au cadmium

L'effet génotoxique du Cd n'est pas direct. Il est faiblement mutagène dans les cellules mammifères et beaucoup d'études documentent la présence au moins de trois mécanismes d'action jouant un rôle prédominant dans la génotoxicité du Cd qui sont:

- 1- L'induction indirecte des ROS, ce qui entraîne la rupture de brins d'ADN par action directe sur la chromatine (**Greco et al., 2012**).
- 2- L'inhibition de la réparation de l'ADN : Le mécanisme moléculaire précis impliqué dans l'inhibition de la réparation de l'ADN par le Cd n'est pas clairement identifié, il semblerait que le cadmium peut agir au niveau de la réparation ou l'accumulation de 7,8-dihydro-8-oxoguanine de l'ADN par inactivation d'une série de protéines impliquées dans la première étape de réparation de base par excision telles que 8-oxoguanine-DNA glycosylase (**Hartwig, 1994**).
- 3- L'effet du Cd sur l'expression des gènes et le signal de transduction intracellulaire peut altérer la prolifération cellulaire, l'apoptose, la nécrose et d'autres fonctions cellulaires.

D'après **Messner et ses collaborateurs (2016)** l'augmentation de la perméabilité membranaire du Cd interfère avec la concentration de Ca^{+2} interne qui joue un rôle dans la voie alternative de transduction des différents signaux de régulation cellulaire. Le cadmium peut donc altérer l'homéostasie calcique suite à sa capacité d'induire l'effort de RE dans les cellules endothéliales en raison de la production des ROS, par le déclenchement de la voie de signalisation de l'UPR (*Unfolded Protein Response*), ainsi la phosphorylation de facteur d'initiation de la traduction eIF2 α (eukaryotic Initiation Factor 2 α) par UPR responsable de la formation d'auto-phagosome qui s'accompagne par une autophagie. Le processus de la mort endothéliale induite par le Cd des cellules est devenu plus compliqué, car il est maintenant prouvé que le Cd déclenche une autre forme programmée de la mort nécrotique de cellules accomplie par la rupture des lysosomes.

Le déséquilibre de Ca^{+2} induit par le cadmium peut être une conséquence d'un phénomène apoptotique suite à la transmission du signal de la mort cellulaire assuré par le Ca^{+2} et le clivage d'une famille des protéases non lysosomiales de cystéine Ca^{+2} -dépendantes connues sous le nom de calpains (**Smith et al., 2012**). L'autre effet génique du Cd est la perturbation de l'expression de certains gènes tels que les suppresseurs de tumeur p53. Des études

démontrent que le Cd endommage l'ADN des cellules endothéliales même à des concentrations inférieures, menant à la mort de cellules par l'intermédiaire de la p53 (figure 12).

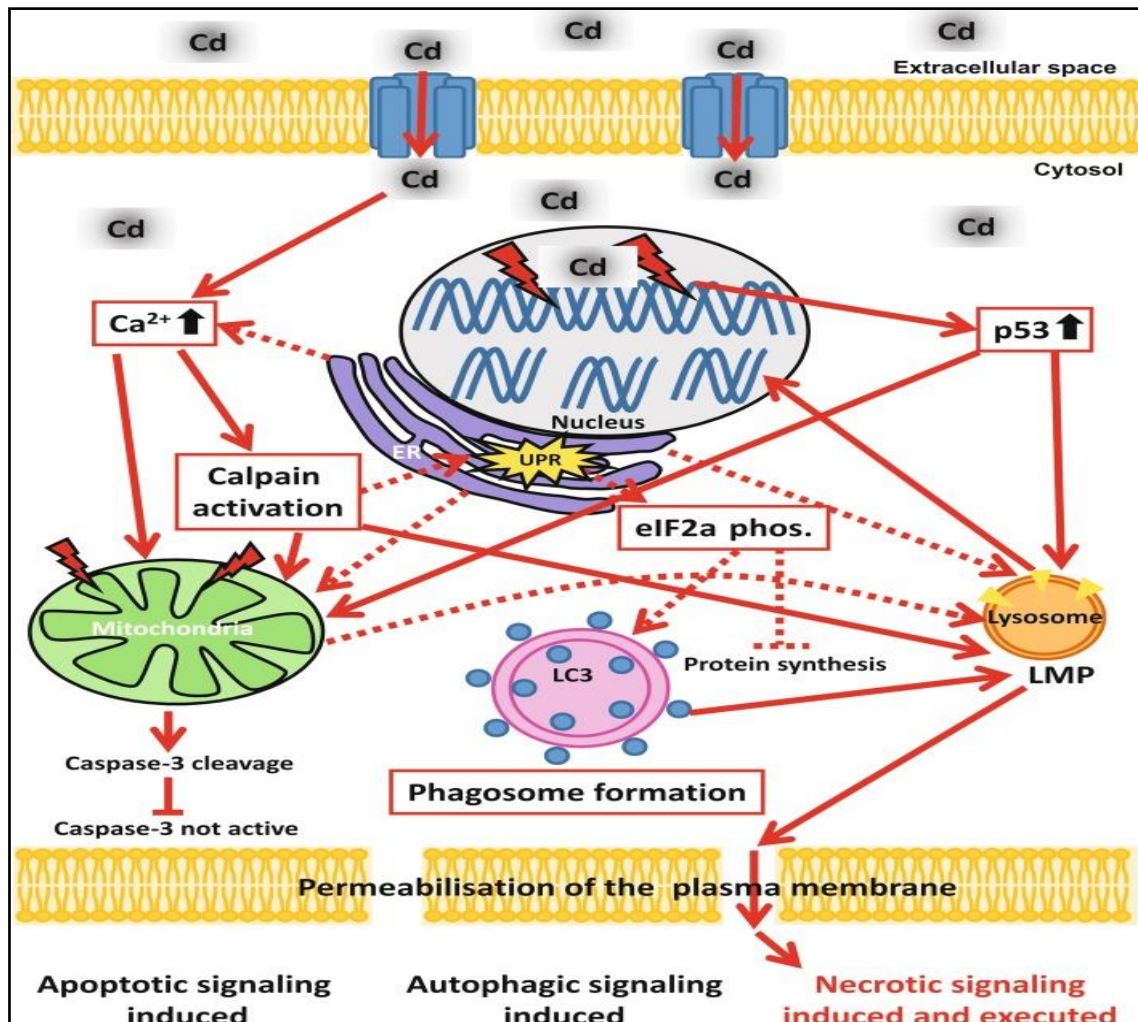


Figure 12 : Les voies de signalisation Cd-induite en cellules endothéliales (Messner *et al.*, 2016).

VI.2. La génotoxicité liée au plomb

Le plomb (Pb) est un métal cancérigène aux humains et aux animaux d'expérience, cependant les mécanismes fondamentaux ne sont pas toujours clairs. Selon des études réalisées sur des cellules mammifères, le Pb est faiblement mutagène après une longue durée d'incubation, d'ailleurs. Au cours de la période d'exposition au plomb la réparation des coupures d'ADN induite par les rayons-X a été inhibée par l'interaction des ions de Pb avec les

enzymes impliquées dans le traitement ADN et sa réparation où le Pb diminue la fidélité de l'ADN polymérase (**Hartwig, 1994**).

Un mécanisme de génotoxicité a été également proposé par plusieurs études notamment la possibilité des cassures de brins d'ADN par un agent d'alkylation où l'ALAD est plus sensible à l'effet toxique du Pb, aussi, l'inhibition de l'activité enzymatique de ce dernier est responsable de l'accumulation d'ALA qui induit la génération des ROS, qui peuvent cibler l'ADN. Le produit final d'oxydation d'ALAD est le 4,5 acide dioxovalérique qui est un agent d'alkylation efficace au sein d'ADN (**sharma et al., 2011**).

PARTIE PRATIQUE

I. Matériel

Afin d'investir l'effet des métaux lourds à faibles doses sur le cerveau, le foie et les reins, nous avons réalisé un modèle expérimental sur les souris.

I.1. Entretien des animaux

Des souris femelles *Wistar albinos* d'environ 30g ont été fournies par l'institut Pasteur d'Alger. Les animaux ont été maintenus dans des conditions de température et d'humidité standards d'une température de $24 \pm 2^\circ\text{C}$ et une hygrométrie de 60%, avec un cycle périodique (lumière /obscurité) de 12 heures. Ils ont eu libre accès à la nourriture des rongeurs et de l'eau distillée.

I.2. Les métaux et les doses choisis

Les métaux choisis dans cette étude sont le plomb et le cadmium, dont les doses ont été adoptées selon les teneurs de ces métaux dans les poissons du barrage de Beni Haroun, (**Rafiq Djellit, 2014**). Cette étude a montré une concentration moyenne allant de $5.88 \mu\text{g/g}$ pour le plomb et de $0.32 \mu\text{g/g}$ pour le cadmium. Il est constaté que ces valeurs dépassent largement les concentrations recommandées par la Communauté Economique Européenne (CEE) qui sont de l'ordre de $0,05 \mu\text{g/g}$ et $0,3 \mu\text{g/g}$ de Cadmium et de plomb respectivement (**CEE in, Levret et al., 2008**).

Pour convertir la concentration des métaux dans les poissons à des doses quotidiennes dans les études expérimentales sur des animaux, nous avons utilisé un facteur de conversion qui est de 0.15 chez la souris (**EFSA, 2011**).

Tableau1 : Les doses sélectionnées

L'élément	La dose $\mu\text{g/kg}$
Pb	882 $\mu\text{g/kg}$
Cd	48 $\mu\text{g/kg}$

II. Méthodes

II.1. Préparation des solutions

Dans cette étude, et afin de préparer les solutions destinées pour le traitement journalier des animaux nous avons utilisé l'acétate de plomb et le chlorure de cadmium, dont nous avons préparé trois solutions :

- La première solution est constituée de l'acétate de plomb dissous dans l'eau distillée avec une concentration adaptée pour avoir une dose égale à 882µg/kg
- La deuxième solution c'est la solution de chlorure de cadmium dissous dans l'eau distillée avec une concentration appropriée pour avoir une dose égale à 48µg/kg
- Pour préparer la troisième solution nous avons mixé les deux sels (acétate de plomb et chlorure de cadmium) avec l'eau distillée.

II.2. Traitement des animaux

Les animaux ont été répartis aléatoirement en 04 groupes de 12 souris chacun.

- **Groupe I:** témoin, recevant 0.1ml de l'eau distillée par gavage pendant 6 mois.
- **Groupe II (G-Pb):** recevant quotidiennement 0.1ml de la solution aqueuse d'acétate de plomb (882µg/kg) par gavage pendant 6 mois.
- **Groupe III (G-Cd):** les animaux ont reçu quotidiennement 0.1ml de la solution aqueuse de chlorure de cadmium (42µg/kg) par gavage pendant 6 mois.
- **Groupe VI (G-Mixture):** les animaux ont reçu quotidiennement 0.1ml de la solution aqueuse d'une mixture de 882µg/kg + 42µg /kg de l'acétate de plomb et de chlorure de cadmium respectivement pendant 6 mois par gavage.

Le poids corporel des animaux a été suivi chaque mois tout le long de la période d'étude.

II.3. Les tests de comportement

Les modèles comportementaux chez les animaux sont cruciaux pour la recherche neurobiologique, ces modèles permettent l'étude approfondie des pathologies qui affecte le cerveau (Kalueffet *al.*, 2008)

II.3.1. Test du champ ouvert (*OpenField test* (OF))

L'*Open Field* est considéré parmi les tests les plus anciens et les plus courants, il est largement utilisé pour évaluer le comportement émotionnel chez le rat et les souris (Crawley *et al.*, 1997). Ce test était proposé pour la première fois par Hall en 1934 (Gould, 2009), il consiste à mesurer l'activité locomotrice chez les souris, et est également utilisé pour évaluer leur degré d'anxiété (Crepeaux *et al.*, 2012 ; Yuksel Kivraka and Turkey, 2012). En principe l'OFest un espace clos sous forme cylindrique, carré ou rectangulaire avec un toit ouvert (figure 13) (Ennaceur and Chazot, 2016).

Dans ce test, le dispositif utilisé est une enceinte carrée en verre, le sol du dispositif est divisé en 36 carrés. Au début, les souris ont été acclimatées dans la salle d'examen au moins 10 min avant le démarrage du test (**Tatemet al., 2014**), ensuite, nous avons placé à chaque fois une souris gentiment dans un des quatre coins du dispositif dont leur tête était dirigée vers le coin, ce test dure 5 min, le dispositif de l'OF est nettoyé entre chaque test par l'éthanol.

Le comportement des souris dans ce test a été filmé à l'aide d'une caméra vidéo, cette dernière est connectée à un ordinateur qui enregistre les vidéos pour les analyser ultérieurement.



Figure 13 : illustration de dispositif servant au test de l'OF

II.3.2. Test d'exploration de la boîte éclairée /obscur (Light/Dark box test) :

Ce test a été développé pour la première fois par Crawley et Goodwin au début des années 1980 (**Bourin and Hascoet, 2003 ; Camposet al., 2013**), ce test est parmi les tests les plus courants qui permet l'évaluation de degré d'anxiété chez les souris (**Holmeset al., 2001 ; Keizo and Tsuyoshi, 2006.**). Le principe de ce test est basé sur l'exploitation de l'aversion innée des rongeurs vis à vis à une zone éclairée et leur tendance à explorer un nouvel environnement. Les rongeurs préfèrent les espaces confinés et moins éclairés, par contre, ils hésitent dans les espaces ouverts et éclairés(**Ardayfio and Kim, 2006**).

Le dispositif utilisé est une boîte divisée en deux chambres. La première est étroite et opaque avec un toit fermé tandis que la seconde est grande, lumineuse et ouverte. Ces deux chambres sont séparées par une barrière opaque contient un orifice permettant le déplacement libre des souris entre les deux chambres (figure 14).

Le jour du test, chaque souris a été placée dans la chambre éclairée dont sa tête a été orientée vers l'orifice puis le comportement de souris a été observé pendant 5 minutes à l'aide d'une caméra vidéo en connexion avec un ordinateur pouvant enregistrer et analyser les vidéos obtenues.



Figure 14 : illustration de dispositif utilisé dans le test de la chambre éclairé/obscur

II.3.3. Test de *Konzielas inverted screen*

Le test de *Konzielas inverted screen* est un test utilisé pour évaluer la force musculaire des animaux (Deacon, 2013), les procédures du test consiste à disposer l'animal, qui est dans cette étude la souris, dans le centre d'un écran métallique poreux avec des bordures en bois puis faire pivoter l'écran à une position inversée (figure15). La réalisation du test a été effectuée après une acclimatation des souris dans la salle de manipulation pour éliminer l'effet de stress issu de l'environnement. Le temps permettant la fixation de la souris avant sa chute est scoré. Si la souris résiste plus de 60 secs, elle prend le meilleur score (4) et le test est stoppé par son retraitage de l'écran.



Figure 15: L'illustration du test de "Konzielasinvertedscreen"

Les résultats sont exprimés avec des scores tout dépend du temps permettant la fixation de la souris dans l'écran avant de tomber. Si ce temps est entre 1et 10 sec la souris prend le score 1. S'il est entre 10 et 26sec elle prend le score 2.Entre 26 et 60 elle prend le score 3.

II.4.Sacrifice des animaux

Le jour de sacrifice, les souris de chaque lot ont été divisées en deux groupes de 6 chacun. L'un de ces deux groupe a été utilisé pour l'extraction des neuromitochondries et l'autre a servi pour extraire le cytosol des neurocytes, le foie, les reins et le prélèvement du sang, et ce, pour le dosage des paramètres du stress oxydatif et les paramètres biochimiques sanguins.

II.5. Préparation des échantillons à testés

II.5.1. les neurométochondries

II.5.1.1.Isolement des mitochondries du cerveau

Après décapitation, le cerveau a été récupéré et suspendu immédiatement dans le tampon TSE (10mM de tris, 250Mm sucrose et 1 mM EDTA, pH : 7.2) à 4°C, puis homogénéisé dans le même tampon pour obtenir un homogénat de tissu de 10%. Ce dernier a été centrifugé en premier temps à 600g pendant 10 minuté pour éliminer les débris cellulaires, le surnageant récupéré a été centrifugé 10 000g pendant 10 minutes. Le surnageant de cette centrifugation a été jeté et le culot obtenu a été remis en suspension dans un tampon d'isolement sans EDTA. Puis une nouvelle centrifugation à 10 000g pendant 10 minutes a été effectuée. Leculot final obtenu a été remis en suspension dans le tampon de stockage (10mM Tris, 250mM de

saccharose, pH : 7.2). L'ensemble de la procédure d'isolement a été réalisé à 4°C. (**Sahuet *et al.*, 2014**)

II.5.1.2. Préparation de la matrice mitochondriale

Pour récupérer la matrice mitochondriale, nous avons procédé à une congélation et décongélation associé à une potérisation accrue environ 8fois pour éclater la membrane mitochondriale puis nous avons réalisé une centrifugation de 10 minutes à 9600 rpm/minute, le surnagent obtenu a été utilisé comme matrice mitochondriale.

II.5.2. Préparation de la fraction cytosolique

Pour obtenir la fraction cytosolique du cerveau, du foie et des reins, ces organes ont été homogénéisés avec 3 volume de tampon phosphate 0.1M contient le KCl 17%, cet homogénat a été centrifugé à 3000 g pendant 10 minutes pour éliminer les débris cellulaires, le surnageant obtenu a été récupéré et centrifugé à 10 000 g pendant 30 minute, le surnageant final est considéré comme fraction cytosolique utilisé pour le dosage de différents paramètres de stress (**Iqbal *et al.*, 2003**).

II.6. Dosage des paramètres de stress oxydatif

II.6.1. Dosage de MDA

Le malondialdehyde (MDA) est l'un des produits terminaux formés lors de la peroxydation lipidique qui résulte de la coupure médiée par les radicaux libres, des acides gras notamment polyinsaturés. Le taux de la peroxydation lipidique dans les différents tissus du cerveau, de foie et des reins a été estimé selon le procédé de Niehuis et Samuelson (1968) et Jiang *et al.* (1992), en mesurant l'absorbance du substrat issu de la réaction entre l'acide thiobarbiturique (TBA) et MDA (figure 16). Brièvement, 0.5 de l'homogénat a été traité par 2ml d'un réactif constitué de TBA 37%, TCA 15%, HCl 0.25N (1v,1v,1v), le mélange issu a été incubé dans un bain marie à 100°C pendant 15 min puis refroidi et centrifugé pendant 10 min, l'absorbance de surnageant formé a été mesurée par un spectrophotomètre à 353nm (**Shagirtha *et Pari*, 2011**).

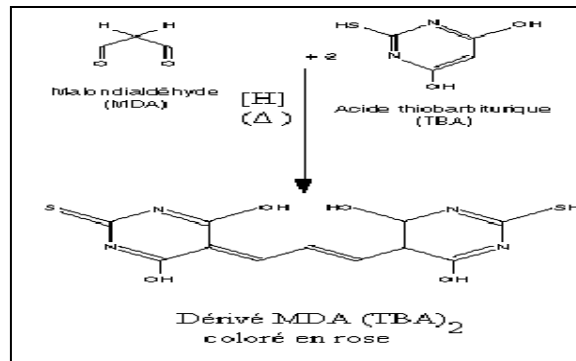
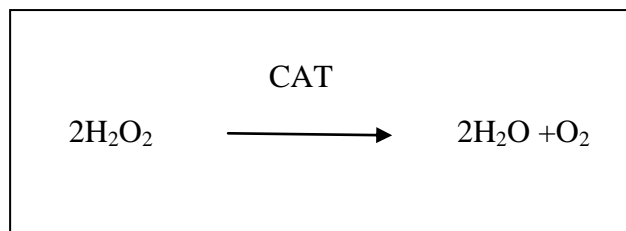


Figure16 : Réaction du MDA avec 2 TBA (Niehius and Samuelson, 1968)

II.6.2.Mesure de l'activité de la catalase

La catalase est une enzyme antioxydante qui existe en forte concentration dans le foie, les reins, le poumon, le cœur et le cerveau. Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène produit par la SOD en eau et l'oxygène moléculaire (Mates *et al.*, 1999) selon l'équation suivante.



L'évaluation de l'activité de la catalase a été effectuée selon la méthode de Clairbone (1985), le principe de cette méthode consiste à doser la disparition de H_2O_2 dans le milieu réactionnel sous l'effet de l'enzyme. Brièvement, 0,5 μl de la source enzymatique (fraction cytosolique ou mitochondriale) a été ajouté à 1ml de tampon phosphate (0,1M, pH7,4). La réaction est déclenchée après l'addition de substrat H_2O_2 (0,019M) ensuite l'absorbance a été immédiatement mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 240 nm, chaque lecture dure 2min dont les DO à t_0 , à 1 minute et après 2 minutes ont été notées. Les résultats sont exprimés en UI/g de protéines selon l'équation suivante.

$$\text{UI/g de protéine} = 2.303/T \times \log (A1/A2)$$

Dont :

T : Intervalle de temps en minute.

A1 : correspond à la DO à t_0 .

A2 : correspond à la DO à t.

II.6.3. Dosage de glutathion

Le dosage de glutathion réduit dans les tissus du foie, du cerveau et des reins est effectué selon la méthode d'Ellman (1959), et Moron *et al.* (1979). La méthode du dosage est basée sur l'évaluation de la réduction du réactif d'Ellman par les groupes (SH) en formant l'acide 2-nitro-mercaptobenzoïque (figure.17). Ce dernier est caractérisé par une coloration jaune intense, ce qui permet sa quantification spectrophotométrique à 412 nm.

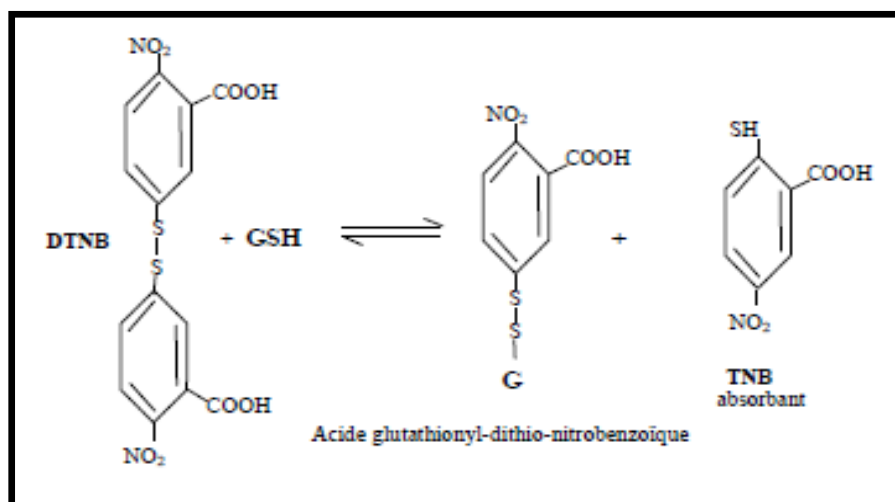


Figure17: Réaction de GSH avec DTNB(Ellman, 1959).

Brièvement, 2ml de tampon phosphate à pH 8 a été mélangé avec 50 μl de la fraction cytosolique et 20 μl de réactif d'Ellman (le DTNB), après 15minuté d'incubation à la température ambiante, la lecture se fait à 412nmcontre un blanc préparé dans les mêmes conditions. Les concentrations du glutathion réduit sont exprimées en mmol/ml. Elles sont déduites à partir d'une gamme étalon de glutathion préparée dans les mêmes conditions que le dosage (annexe 01).

II.6.4. Mesure de l'activité de glutathion-S-transférase

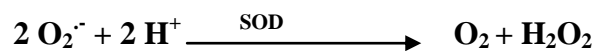
L'évaluation de l'activité de glutathion-s-transférase s'effectue selon la méthode de Habig et al (1974), se résumant en un milieu réactionnel qui se constitue de 850 μl de tampon phosphate d'une concentration égale à 0.1M et un pH égale à 6.5 et 50 μl et de réactif de CDNB à 20 mM a été incubé dans un bain marie à 37°C pendant 10 min, puis la réaction est déclenchée par l'ajout de 50 μl d'une solution de GSH de 20mM et 50 μl de la fraction

cytosolique. La réaction de conjugaison entre le GSH et le CDNB en présence de l'enzyme GST donne un composé qui absorbe à 340nm. Ainsi, le changement dans l'absorbance est enregistré à une longueur d'onde 340 nm dans un intervalle d'une minute pendant 4 minutes contre un contrôle préparé dans les mêmes conditions avec du tampon phosphate. Les résultats sont exprimés en UI/mg de protéines selon la formule :

$$K = (\text{DO}_{\text{échantillon}} - \text{DO}_{\text{contrôle}}) \times 100 / (9,6 \times 0,05)$$

II.6.5. Mesure de l'activité de la SOD

L'anion superoxyde qui est considéré comme le premier radical libre oxygéné (ROS) formé dans la cellule est épuisé selon une réaction de dismutation :



La SOD est une enzyme qui accélère cette réaction dans les systèmes biologiques d'environ quatre ordres de grandeur (Valko *et al.*, 2006). L'activité enzymatique de cette enzyme est évaluée selon la méthode de Beauchamp et Fridovich (1971). Le principe de la méthode repose sur la capacité de l'enzyme à inhiber la réaction entre le nitrobleu de tétrazolium (NBT) et l'anion superoxyde produit suite à la photoréaction de l'oxygène et de la riboflavine en présence d'un donneur d'électron comme la méthionine. La réduction du NBT par l'anion superoxyde en Formazan peut être suivie par spectrophotométrie à 560 nm. Une unité d'activité de la SOD est définie comme étant la quantité d'enzyme capable d'inhiber 50% de la réduction de NBT.

L'évaluation de l'activité de la SOD dans la fraction cytosolique et la matrice mitochondriale du cerveau était comme suit : 2ml d'un milieu réactionnel qui contient le cyanide de sodium 10^{-2}M , la solution du NBT $1,76 \times 10^{-2}\text{M}$, EDTA 66 mM, la riboflavine $2 \times 10^{-3}\text{M}$ et le tampon phosphate à pH 7.8 et 50 µl de la source enzymatique (cytosolique ou mitochondriale du cerveau), et 0,1 ml de solution de méthionine 10^{-2}M . Un tube contrôle est préparé avec du tampon phosphate dans les mêmes conditions que les échantillons. Le mélange est soumis à un rayonnement par solaire pendant 15 minutes. L'absorbance est mesurée à 560 nm.

L'activité de la SOD est déterminée en calculant le pourcentage d'inhibition selon la formule suivante :

$$\%d'inhibition = (DO_{\text{contrôle}} - DO_{\text{échantillon}} / DO_{\text{contrôle}}) * 100$$

L'activité de la SOD (UI/ml) est déduite en multipliant le pourcentage d'inhibition par 6.35. Les résultats sont exprimés en UI/g de protéines.

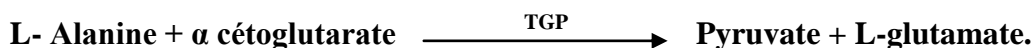
II.6.6. Dosage des protéines

Afin de doser le teneur en protéine dans la fraction cytosolique et mitochondriale, la méthode de Bradford (1976) a été appliquée, qui consiste à traiter les échantillons à doser par le réactif de Bradford en utilisant l'albumine de sérum de bovin comme standard (annexe 02).

II.7. Dosage biochimique des paramètres sanguins de la fonction hépatique et rénale

II.7.1. Mesure des marqueurs enzymatiques (TGO, TGP)

Pour évaluer l'atteinte hépatique, les activités des transaminases TGO et TGP dans le sérum ont été dosées. Les transaminases sont des enzymes ayant une activité métabolique importante à l'intérieur des cellules hépatiques. Leur rôle est de transférer un groupe amine lors des nombreux processus chimiques qui se déroulent au niveau hépatique. Leur augmentation reflète une lésion cellulaire, en particulier au niveau hépatique, cardiaque, rénal ou musculaire (Clark *et al.*, 2003). Il y a deux transaminase dites glutamooxaloacétique TGO et glutamique pyruvique TGP, respectivement. Leur rôle est de transférer un groupe amine, composant des protéines, vers un acide cétonique lors des nombreux processus chimique qui se déroulent au niveau hépatique. Elles catalysent les réactions suivantes en présence du coenzyme phosphopyridoxal :



Le dosage du taux des transaminases par la méthode de Reitman et collaborateur (1957) dans le sang, a été effectué en utilisant des kits de commerce fabriqués par Biomaghreb, en utilisant un appareil multiparamétrique (automate de biochimie, Diam'S2300+ Mat Me DCO, 2008). Les résultats sont exprimés en UI/l.

II.7.2. Dosage de créatinine sérique

La créatinine provient du métabolisme de la créatine musculaire et la quantité quotidienne produite est relativement constante. La mesure de la créatinine dans le sang est effectuée pour évaluer la fonction rénale. La créatinine sérique est mesurée selon la méthode colorimétrique de **Larsen, 1972** en utilisant un Kit commercial (Biomagreb). La créatininémie est exprimée en mg /l.

II.7.3. Dosage d'urée sérique

L'urée est dosée cinétiquement par la méthode de Berthelot modifiée (**1859**). Ce dosage a été réalisé en utilisant un kit commercial,

II.8. Etude statistique

Les résultats numériques et graphiques ont été représentés sous forme de moyennes \pm écart-types. L'évaluation statistique est effectuée en comparant les moyennes des groupes traités par les métaux lourds à celles des groupes témoins. La signification de la différence entre le groupe témoin et les autres groupes a été vérifiée en utilisant le test t de Student. La valeur trouvée par le calcul du t peut confirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur p tel que :

- $p > 0,05$ = la différence n'est pas significative ns,
- $0,05 > p > 0,01$ = la différence est significative *,
- $0,01 > p > 0,001$ = la différence est hautement significative **,
- $p < 0,001$ = la différence est très hautement significative ***.

Le calcul statistique est réalisé en utilisant le logiciel XLSTAT 2016.

I. Variation mensuelle du poids corporel

La variation mensuelle du poids corporel, chez les souris traitées depuis 6 mois est regroupée dans le tableau 02.

L'analyse statistique entre les moyennes a permis de détecter une différence significative à longue de ($p < 0.05$) à ($p < 0.001$) sur la prise du poids des animaux traités durant la période étudiée à partir de 2^{ème} mois en comparaison avec le groupe témoins jusqu'au 6^{ème} mois (Tableau 02).

Tableau 02 : La variation mensuelle du poids corporel, chez les souris traitées durant la période d'étude.

Les lots les mois	Lot Témoin	Lot Cd	Lot Pb	Lot Mixture
1 ^{er} mois	33.98 ± 1.96	34.2 ± 1.83 ns	32.66 ± 0.72 ns	34.4 ± 1.64 ns
2 ^{ème} mois	37.41 ± 2.28	35.05 ± 2.38 *	36.05 ± 2.27 ns	35.2 ± 2.29 ns
3 ^{ème} mois	43.36 ± 4.49	38.21 ± 4.43 *	38.61 ± 1.61 *	39.72 ± 3.25 *
4 ^{ème} mois	43.22 ± 2.68	40.02 ± 2.49 *	40.57 ± 1.62 *	40.75 ± 3.06 *
5 ^{ème} mois	44.53 ± 4.67	40.02 ± 2.49 *	40.57 ± 1.62 *	40.74 ± 3.06 *
6 ^{ème} mois	46.58 ± 2.27	40.2 ± 4.68 ***	40.21 ± 1.56 ***	37.95 ± 3.78 ***

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type comparaison entre les groupes traité et le groupe témoin. Teste Student (ns) désigne un effet non significative ($p > 0.05$), (*) désigne un effet significative ($p < 0.05$), (**) désigne un effet hautement significative ($p < 0.01$), (***) désigne un effet très hautement significative ($p < 0.001$).

II. Les tests de comportement

II.1. Test de "Konziela's inverted screen"

La variation du score mesurant la force musculaire permettant la fixation des animaux à l'écran troué inversé entre les souris traitées est représentée par la figure 19.

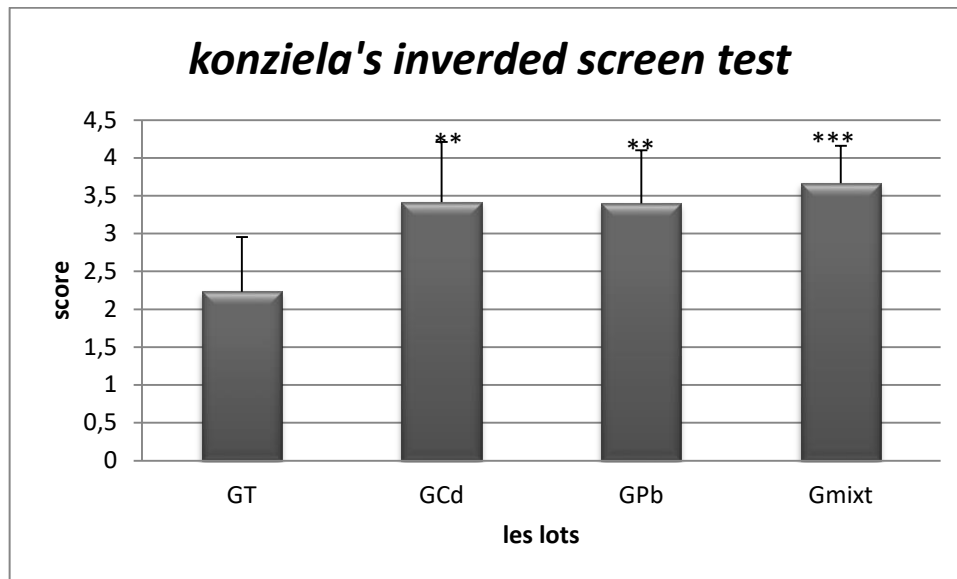


Figure 19: La variation du taux de la force musculaire par le teste de Kondziela's inverted screen chez les souris traitées par différentes métaux lourds (Pb, Cd et la mixture) par rapport au témoin.

Les résultats obtenus à partir de test de *Konziela's inverted screen* représentent une augmentation hautement significative de temps permettant la fixation de la souris dans l'écran inversé chez les souris traitées par le plomb et le cadmium dont les moyennes des scores sont respectivement (3.4 ± 0.69 et 3.41 ± 0.79) ,($p < 0.01$) et une augmentation très hautement significative($p < 0.001$) de cedernier chez le lot traité par la mixture où le score est (3.66 ± 0.49) par rapport au témoin qui représente une moyenne de score égale à (2.23 ± 0.72).

II.2. Test de champ ouvert "*open field*"

La figure 20 montre le taux de l'activité locomotrice chez les souris traitées par le Pb, le Cd et leur mixture (Pb+Cd).

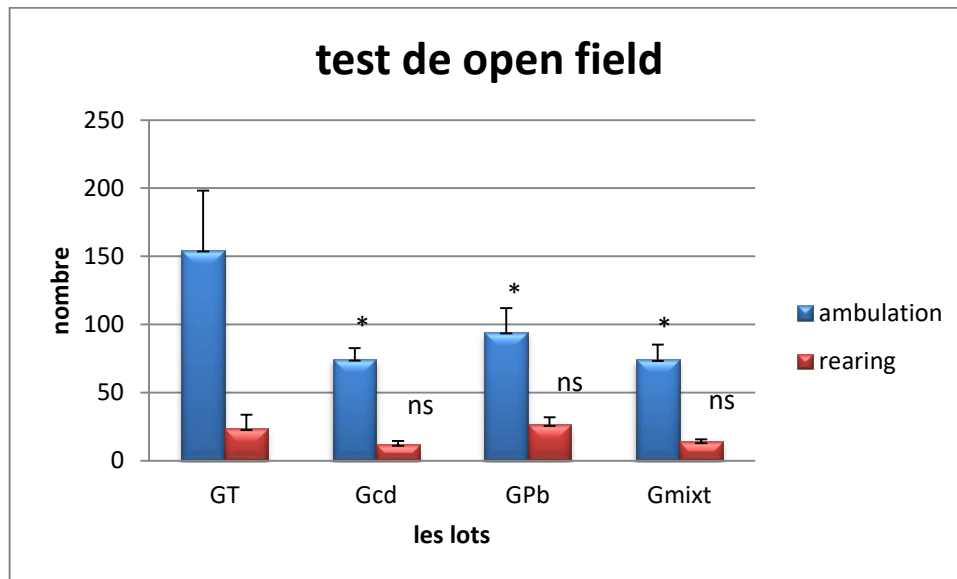


Figure20 : la variation de l'activité locomotrice horizontale (*ambulation*) et vertical (*rearing*) chez les souris exposés aux métaux lourds (cd, Pb et la mixture) par rapport au témoin évalué par le test de l'OF

L'analyse statistique des résultats de test de l'open Field représente une diminution significative ($p < 0.05$) de l'activité horizontale (*ambulation*: le nombre des carrés traversés par l'animal) chez les souris traitées par le Cd, le Pb et leur mixture et aucune différence significative de l'activité verticale (*rearing*: la position où l'animal repose sur leur deux membres postérieurs uniquement) des souris chez tous les lots par rapport au témoin.

II.3. Test de la chambre éclairée/sombre "*light/dark box test*"

Les résultats obtenus à partir de test de "*light/dark box test*" sont mentionnés dans le tableau 03,

Les résultats sont exprimés en pourcentage, ils sont calculés par la façon suivante

- **Dans la chambre sombre** : (le temps passé dans le compartiment sombre en seconde / le temps total de test 300 seconde (5minute)) x100
- **Dans la chambre éclairée de l'instrument** : (le temps passé dans le compartiment éclairé en sec /le temps total de test 300sec) x100

Le tableau 3 : Représente les variations de temps passé par la souris dans une chambre sombre et éclairée

Les lots	Résultats de test en %	Le temps passé dans la chambre sombre en %	Le temps passé dans la chambre éclair en %
Lot témoin		82.21%± 9.02	18.65 %± 9.57
Lot cadmium		79.32% ± 11.15 ns	23.64 %± 11.14 ns
Lot plomb		78.96% ± 10.9 ns	21.04% ± 10.9 ns
Lot mixture		81.3 %± 11.59 ns	18.7% ± 11.59 ns

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type comparaison entre les groupes traité et le groupe témoin. Teste Student (ns) désigne un effet non significative ($p > 0.05$), (*) désigne un effet significative ($p < 0.05$), (**) désigne un effet hautement significative ($p < 0.01$), (***) désigne un effet très hautement significative ($p < 0.001$).

L'étude statistique de test de la chambre sombre/ éclairée ne montre aucune différence significative entre les lots traités et le lot témoin sur le temps passé dans la chambre éclairée et la chambre sombre. Ceci indique ainsi que les métaux étudiés (Pb, Cd, leur mixture) n'ont engendré aucun effet anxio-dépressif.

III. Les Résultats de l'évaluation des différents paramètres du stress oxydatif

III.1. Les résultats de différents paramètres de stress dans le cerveau

III.1.1. L'évaluation de taux de GSH cytosolique

La figure (21) indique les valeurs du taux de GSH cytosolique dans le cerveau chez les différents groupes traités par le plomb, le cadmium et la mixture de ces deux métaux pendant 6 mois.

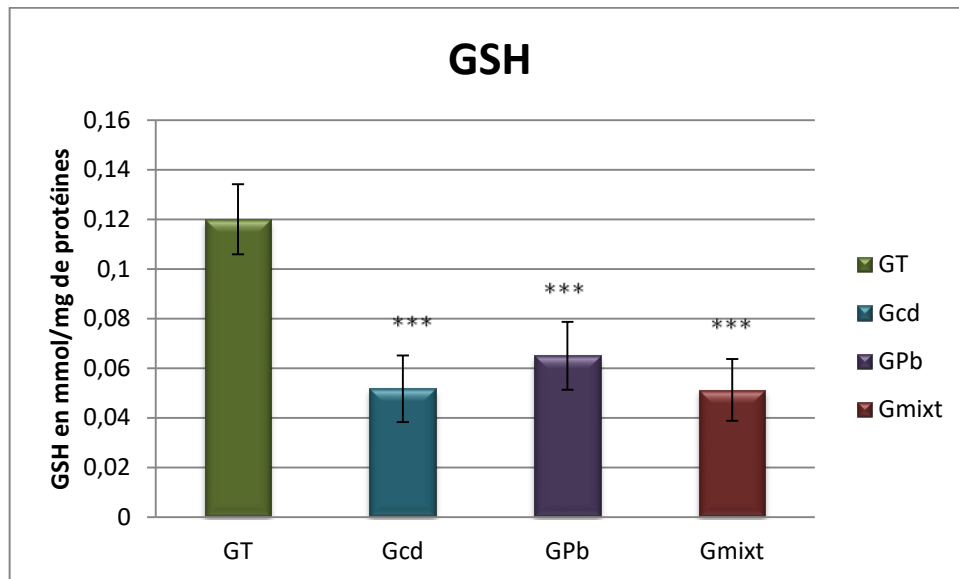


Figure 21 : Variation du taux de GSH dans le cytosol de cerveau

D'après les résultats issus de l'étude statistique de la variation de taux de GSH cytosolique dans le cerveau de différents lots, il y a une diminution très hautement significatif de taux de GSH chez tous les lots traités par rapport au témoin, dont les valeurs ont été 0.052 mmol/mg, 0.065 mmol/mg et 0.051mmol/mg de protéine des lots de Cd, Pb et mixture, respectivement, contre une valeur égale à 0.12 mmol/mg de protéine chez le témoin.

III.1.2.L'évaluation de taux de MDA cytosolique dans le cerveau

Les variations de taux de MDA cytosolique dans le cerveau des souris traitées par différents métaux lourds (Pb, Cd et la mixture Pb+Cd) pendant 6 mois sont représentées dans la figure22.

Les résultats obtenus représentent une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) du taux de MDA cytosoliques dans tous les lots traités par rapport au témoin dont les teneurs enregistrées de MDA sont 0.095 nmol/mg chez le témoin, 0.883mol/g chez le lot de Cd, 0.906nmol/g chez le lot Pb et 0.93nmol/g de protéine chez le lot de la mixture.

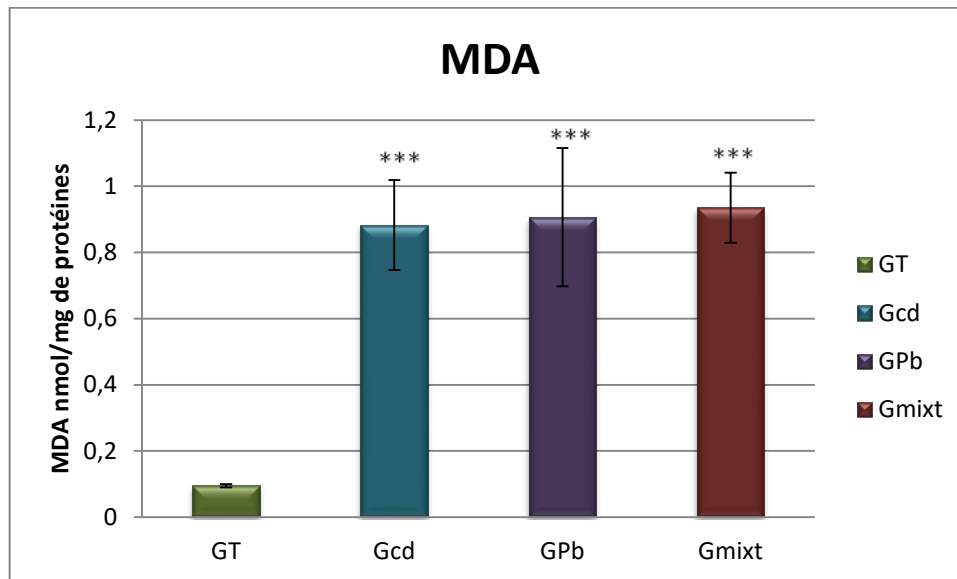


Figure 22: Variation du taux de l'MDA dans le cytosol de cerveau

III.1.3. Evaluation des paramètres enzymatiques du stress oxydatif

III.1.3.1. Evaluation des paramètres de stress enzymatiques dans le cytosol du neurocyte

Le tableau 4. Variation de l'activité enzymatique de différentes enzymes antioxydant (SOD, catalase et GST) dans le cytosol

Les résultats en UI/mg de protéines les lots	SOD UI/mg de protéine	Catalase UI/mg de protéine	GST UI/mg de protéine
Témoin	15.736 +- 1.29	0.205 +- 0.037	8.86 +- 1.04
Cadmium	28.124 +- 3.81 ***	0.11 +- 0.028 ***	15.32 +- 1.18 ***
Plomb	27.06 +- 3.7 ***	0.128 +- 0.025 **	12.16 +- 0.37 ***
Mixture	24.06 +- 4.3 **	0.2 +- 0.024 ns	12.72 +- 1.06 ***

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type comparaison entre les groupes traité et le groupe témoin. Teste Student (ns) désigne un effet non significative ($p > 0.05$), (*) désigne un effet significative ($p < 0.05$), (**) désigne un effet hautement significative ($p < 0.01$), (***) désigne un effet très hautement significative ($p < 0.001$).

Les résultats exprimés dans le tableau 4 montrent une augmentation hautement significative de l'activité de la SOD chez les lots traités par le plomb et le cadmium avec ($p < 0.001$) et une augmentation hautement significative de l'activité de cette enzyme chez les le lot traité par la mixture dont ($p < 0.01$). En ce qui concerne l'activité de la catalase il ya une diminution très hautement significative chez les groupes traités par le plomb et le cadmium et aucune variation de l'activité de cette enzyme chez le groupe traité par la mixture par rapport au groupe témoin, nous constatons aussi selon le tableau précédant une augmentation très hautement significatif de l'activité de la GST chez toutes les souris de différent lots (Cd, Pb et leur mixture Pb+Cd).

III.1.3.2. Evaluation des paramètres de stress enzymatiques dans la mitochondrie du cerveau

Les résultats de l'évaluation de l'activité des antioxydases mitochondriales en l'occurrence la SOD et la CAT sont résumés dans le tableau 5.

Tableau 5: Les résultats obtenus de l'activité enzymatique de la SOD et de la catalase mitochondriale.

Les résultats en UI/mg de protéine Les groupes	SOD UI/mg de protéine	CAT UI/mg de protéine
Témoin	33.17+-6.63	0.131+-0.041
Cadmium	52.82+-12.85*	0.168+-0.053 ns
Plomb	56.55+-5.58***	0.345+-0.04***
Mixture	71.27+-16.38**	0.417+-0.029***

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type comparaison entre les groupes traité et le groupe témoin. Teste Student (ns) désigne un effet non significative ($p > 0.05$), (*) désigne un effet significative ($p < 0.05$), (**) désigne un effet hautement significative ($p < 0.01$), (***) désigne un effet très hautement significative ($p < 0.001$).

D'après les résultats indiqués dans le tableau (5), nous avons constaté une augmentation significative ($p < 0.05$) de l'activité de la SOD mitochondriale du cerveau chez le lot traité par le Cd, et une activité très hautement significative de l'activité de cette enzyme chez le lot de Pb et une augmentation hautement significative également ($p < 0.01$) chez le lot de la mixture. Concernant

l'activité de la catalase mitochondriale du cerveau les résultats obtenus indiquent également une augmentation très hautement significative chez les lots traités par le Pb et la mixture, tandis que chez le lot traité par le Cd, l'augmentation n'atteint pas une signification statistique.

III.2. Evaluation des différents paramètres du stress oxydant dans le foie et les reins

III.2.1. Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)

La variation de l'activité enzymatique de catalase (CAT) cytosolique dans le foie et les reins chez les souris exposées chroniquement au Pb, au Cd et à leur mixture par voie orale pendant 6 mois, est représentée dans la figure 23.

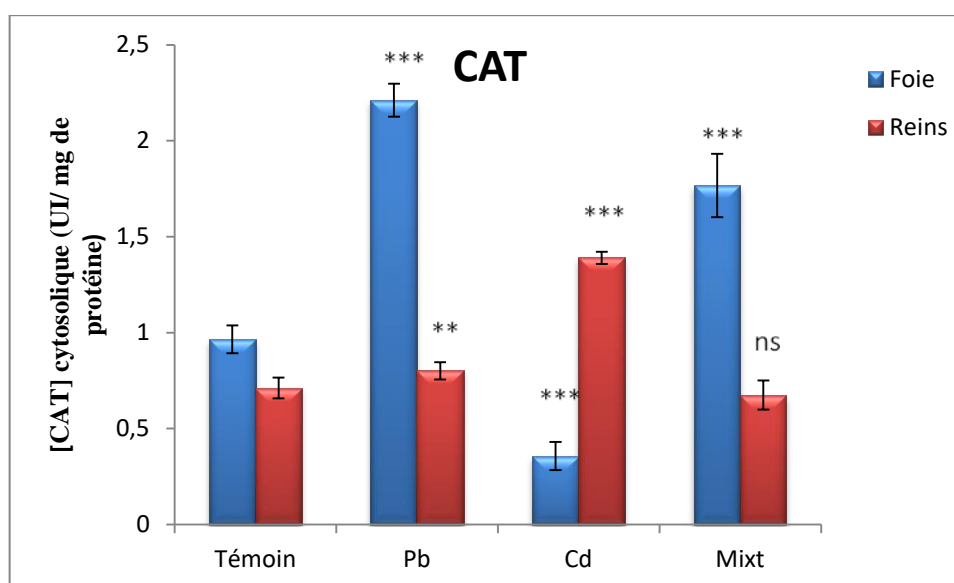


Figure 23: Variation du taux de catalase cytosolique chez les différents groupes de souris exposées aux métaux lourds.

L'activité enzymatique de la CAT hépatique augmente de façon très hautement significative ($p < 0.001$) chez les groupes traités par le Pb et la mixture avec des valeurs de (2.21 ± 0.08 UI/mg ; 1.76 ± 0.16 UI/mg) respectivement et une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) chez le groupe traité par le Cd avec une valeur de (0.35 ± 0.07 UI/mg) en comparaison avec le groupe témoin (0.96 ± 0.07 UI/mg).

La variation du taux de catalase cytosolique rénale est hautement significative ($p < 0.01$) chez le groupe recevant le Pb avec une valeur de (0.801 ± 0.04 UI/mg), une augmentation très hautement significatif ($p < 0.001$) chez le groupe traité par le Cd (1.39 ± 0.03 UI/mg) par contre chez le lot exposé à la mixture, nous constatons une variation non significative ($p > 0.05$), (0.67 ± 0.07 UI/mg) par rapport au groupe témoin (0.712 ± 0.05 UI/mg).

III.2.2 Estimation de l'activité de la glutathion-S- transférase (GST)

La variation du taux du GST cytosolique dans le foie et les reins après administration chronique de 6 mois du Pb, du Cd et de la mixture par voie orale est représentée par la figure 24.

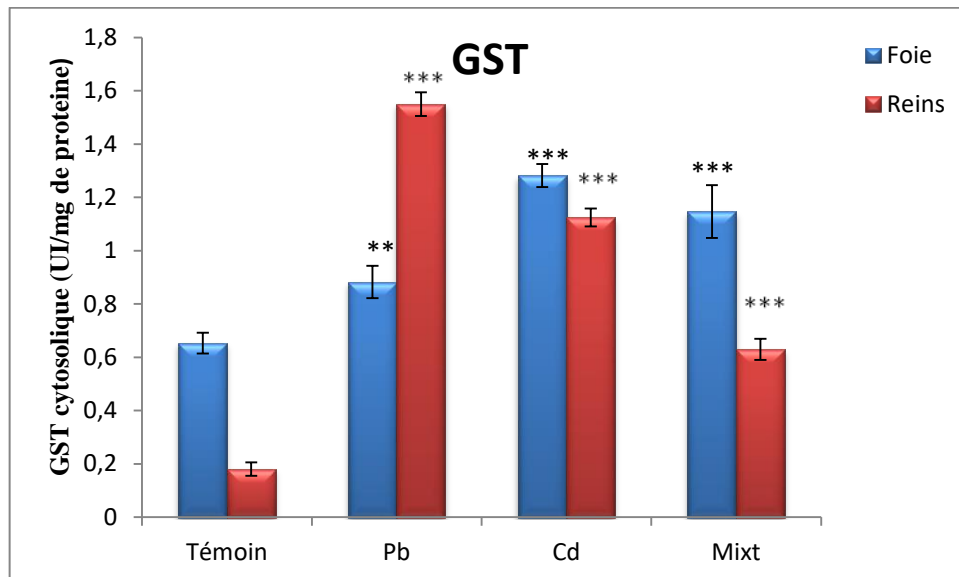


Figure 24: Variation du taux de GST cytosolique chez les différents groupes de souris exposées aux métaux lourds.

On constate une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) du taux de GST cytosolique dans le foie chez le groupe contaminé par le Pb avec une valeur de $(0.88 \pm 0.06 \text{ UI/mg})$ et une augmentation très hautement significative chez les deux groupes traités par le Cd et la mixture ($0.28 \pm 0.04 \text{ UI/mg}$; $1.14 \pm 0.09 \text{ UI/mg}$) en comparaison avec le groupe témoin ($0.65 \pm 0.03 \text{ UI/mg}$).

D'un autre côté, on remarque une augmentation très hautement significative du taux du GST cytosolique rénale chez les trois lots traités par le Pb, Cd et la mixture ($1.55 \pm 0.04 \text{ UI/mg}$; $1.12 \pm 0.03 \text{ UI/mg}$; $0.63 \pm 0.039 \text{ UI/mg}$) respectivement, par rapport au groupe témoin ($0.18 \pm 0.025 \text{ UI/mg}$).

III.2.3 Détermination du taux du glutathion réduit (GSH)

La variation du taux du GSH cytosolique dans le foie et les reins après administration chronique du Pb, du Cd et de la mixture, par voie orale pendant 6 mois est représentée par la figure 25.

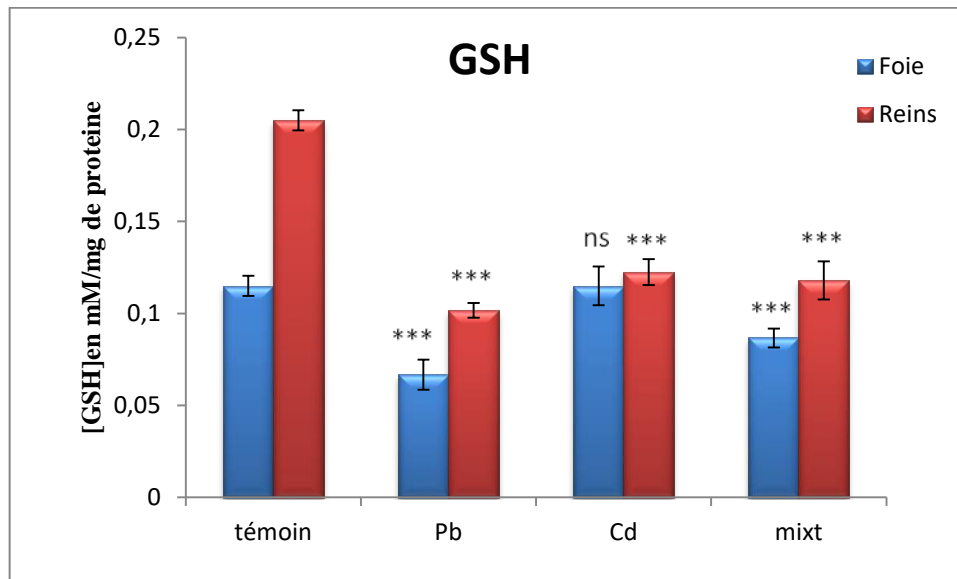


Figure 25: Variation du taux de GSH cytosolique dans le foie et les reins chez les différents groupes de souris exposées aux métaux lourds.

Cet histogramme montre une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) du taux de GSH hépatique chez les groupes traités par le Pb (0.06 ± 0.008 mmol/mg) et au qu'une variation significative de taux de GSH hépatique chez le groupe exposé au Cd, ainsi une diminution de taux du GSH très hautement significative ($p < 0.001$) chez les groupes traités par un mélange de Pb et Cd (0.08 ± 0.005 mmol/mg) par rapport au groupe témoin (0.11 ± 0.005 mmol/mg)

En revanche, on remarque aussi une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) du taux de GSH rénal chez les trois groupes traités par le Pb, Cd et la mixture (0.101 ± 0.004 mmol/mg ; 0.122 ± 0.007 mmol/mg et 0.118 ± 0.010 mmol/mg) respectivement en comparaison avec le groupe témoin (0.205 ± 0.005 mmol/mg).

III.2.4. Estimation de la peroxydation lipidique cytosolique

Les résultats de variation du taux du MDA cytosolique dans le foie et les reins après administration chronique du Pb, du Cd et leur mixture par voie orale pendant 6 mois sont représentés dans la figure 26.

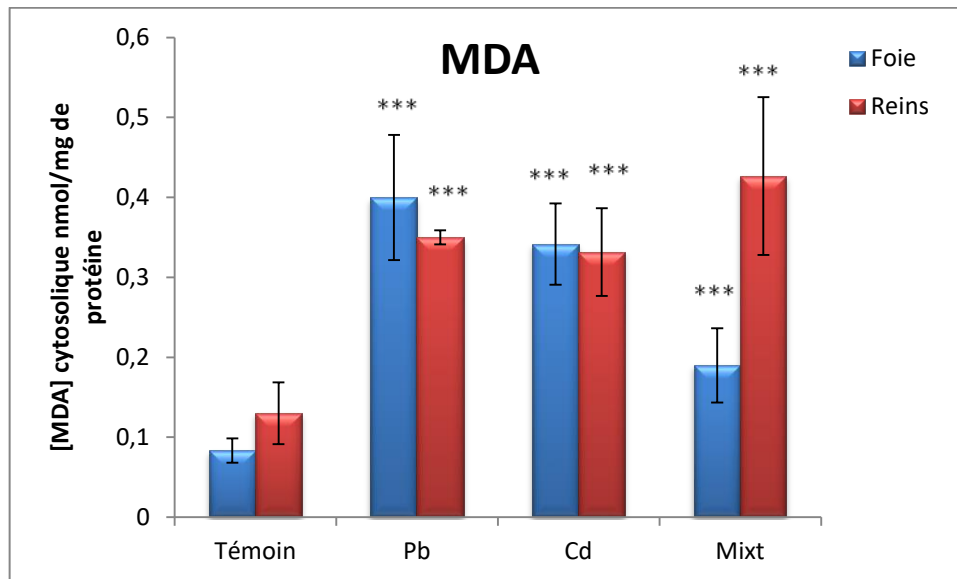


Figure 26 : Variation de MDA cytosolique dans le foie et les reins chez les différents groupes de souris exposées aux métaux lourds.

On constate une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) du taux de MDA issu de la peroxydation lipidique dans le foie chez les trois groupes d'animaux contaminés par le Pb, Cd et la Mixture avec des valeurs respectives de (0.4 ± 0.078 nmol/mg ; 0.341 ± 0.05 nmol/mg et 0.19 ± 0.046 nmol/mg), en comparaison avec le groupe témoin (0.08 ± 0.015 nmol/mg).

D'autre part, on remarque une augmentation très hautement significative du taux de MDA cytosolique rénal chez les trois lots traités par le Pb, Cd et la mixture avec les valeurs respectives (0.35 ± 0.008 nmol/mg ; 0.33 ± 0.05 nmol/mg ; 0.42 ± 0.09 nmol/mg), par rapport au groupe témoin (0.13 ± 0.038 nmol/mg).

VI.3. Evaluation des paramètres biochimiques du sang

La variation de la concentration sérique de l'urée, de créatinine et des transaminases (TGP, TGO) après administration orale chronique du Pb, du Cd et de la Mixture, pendant 6 mois, est représentée dans le tableau 06.

Tableau 06 : Variation des paramètres biochimiques du sang chez les différents groupes de souris exposées aux métaux lourds.

paramètres groupes	TGO UI / l	TGP UI / l	Urée UI / l	Créatinine UI / l
Lot Témoin	95.2±12, 05	52.77±8.19	0,5±0,064	6,5±0,577
Lot Pb	413±28.01 ^{***}	151±6,95 ^{***}	0,436±0,056 ^{ns}	10,5±0,5 ^{**}
Lot Cd	164.21±19.38 ^{***}	68.2±4.22 [*]	0,575±0,005 [*]	34,75±0,5 ^{***}
Lot Mixture	241,83±19.31 ^{***}	133.5±24.98 ^{***}	0,432±0,033 ^{ns}	28,25±1,7 ^{**}

La variation de la concentration sérique d'urée, de la créatinine et des transaminases (TGP, TGO) chez les souris témoins, les traités par le Pb, Cd et la Mixture, les valeurs sont exprimées en moyennes ± écart type. Teste Student (ns) désigne un effet non significative ($p > 0.05$), (*) désigne un effet significative ($p < 0.05$), (**) désigne un effet hautement significative ($p < 0.01$), (***) désigne un effet très hautement significative ($p < 0.001$).

Les résultats obtenus dans notre travail (tableau 06) ont montré une augmentation très hautement significative de TGO plasmatique ($p < 0.001$) chez les trois lots des souris traitées par le Pb, Cd et la Mixture avec les valeurs de (413±28.01 UI / l ; 164.21±19.38 UI/l et 241,83±19.31UI/l), respectivement, en comparaison avec le groupe témoin (95.2±12.05UI/l).

D'autre part, nous avons enregistré une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$), du taux de TGP sérique chez les souris traitées par le Pb (151±6.95UI / l) et une augmentation significative ($p < 0.05$), chez les groupes traités par le Cd (68.2±4.22 UI / l) et également une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$), chez les groupes traités par la mixture (133,5±24.98 UI / l) par rapport aux groupes témoins (52.77± 8.19UI/l).

Les résultats du tableau 06 montrent aussi une augmentation significative ($p < 0.05$), chez les souris traitées par le Pb (0,575±0,005 UI / l) et une variation non significative ($p > 0.05$), du taux d'urée sérique chez les souris traitées par le Cd et la Mixture (0,436±0,056UI / l ; 0,432±0,033 UI / l) en comparaison avec le groupe témoin (0,5±0,064 UI / l).

Par ailleurs, les résultats de la présente étude montre une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) chez les souris recevant du Pb (34,75±0,5UI / l) et une augmentation hautement significative de la concentration sérique en créatinine ($p < 0.01$) chez les groupes traités par le Cd et la Mixture (10,5±0,5 UI / l ; 28,25±1,7 UI / l), respectivement, par rapport au groupe témoin (6,5±0,577 UI / l).

Discussion

Le rejet des polluants, notamment en ce qui concerne les métaux dans les régions urbaines est en augmentation continue, ce qui peut constituer une grave menace pour la qualité de vie dans le monde en développement (**Lion and Olowoyo, 2013**). L'exposition à des composés contenant les métaux lourds peut être toxique, mutagène, tératogène et cancérigène pour les êtres humains et les animaux (**Wylly and Jose, 2014 ; Whiteside et al., 2010**)

Les manifestations toxiques de ces métaux sont attribuées en partie au stress oxydatif. Ce dernier est défini comme un déséquilibre entre la production de radicaux libres et de métabolites réactifs, appelés oxydants, et leur élimination par des systèmes antioxydants. Ce déséquilibre conduit à des dommages de biomolécules importantes perturbant le fonctionnement normal de nombreux organes ayant un impact potentiel sur l'organisme entier (**Wylly and Jose, 2014**). En effet, le plomb et le cadmium amorcent l'épuisement des réserves de sulfhydryle de la cellule et sont indirectement impliqués dans le stress suite à la production des ROS tels que l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, l'hydroxyl (**Ercalet et al., 2001**). Les ROS induisent la néphrotoxicité, l'hépatotoxicité et la neurotoxicité (**Mahino et al., 2015**).

Dans cette présente étude nous avons évalué *in vivo* l'effet toxique de Pb et de Cd et leur mixture sur le cerveau, le foie et les reins des souris exposées pendant 6 mois à des micro-doses de ces métaux. Une approche biochimique et toxicologique a été abordée pour évaluer l'intégrité cellulaire et mitochondriale d'un point de vue fonctionnel dans les différents organes étudiés.

L'Effet des métaux lourds sur le poids corporel

Les résultats ont montré une réduction significative du poids corporel des souris après exposition à ces métaux toxiques étudiés. La réduction du poids corporel est une indication de l'état de santé général des souris, et représente une croissance retardée en raison de l'exposition aux métaux toxiques. L'exposition au métal provoque un retard des activités enzymatiques, une dégradation accrue des lipides et des protéines et une dégénérescence des organes vitaux qui ralentit finalement la croissance de souris. Cet effet est dû en effet à la perturbation métabolique causée par la présence des radicaux libres (**Oszlancziet et al., 2010**). La réduction de poids des souris traitées pendant la période d'étude peut être également liée à la réduction de la consommation d'eau et de nourritures (**Cobbina et al., 2015**). Les travaux de Leelavinothan Pari et Kalist Shagirtha sur l'effet hépatotoxique de Cd supporte cette hypothèse ou chez les rats traités par le Cd, la consommation

d'eau et d'aliment a significativement ($p < 0,05$) réduit la prise du poids corporel (**Pari and Shagirtha, 2013**)

II. Effet des métaux sur le statut redox dans le cerveau

Le système nerveux y compris le cerveau est une cible à divers xénobiotiques comme les métaux lourds (**Oszlancziet al., 2010**), qui sont capables d'entraîner ce qu'on appelle la neurotoxicité; ce terme est utilisé pour décrire les changements neurophysiologiques causés par l'exposition à des agents toxiques, une telle exposition peut entraîner des symptômes neurocognitifs et/ou des troubles psychiatriques (**Mason et al., 2014**). Nous signalons que le Pb et le Cd sont des métaux lourds neurotoxiques capables de provoquer des troubles du comportement et des dysfonctionnements biochimiques du SNC (**Tobwala et al., 2014**).

La toxicité associée de ces métaux peut être due au moins en partie à leur capacité à générer des radicaux libres (**Sherilet et al., 2004**). Le stress oxydatif est une caractéristique importante de nombreux troubles neurodégénératifs tels que la maladie d'Alzheimer (AD), la maladie de Parkinson (PD) et la sclérose latérale amyotrophique (**Chenet et al., 2010**), ainsi nous avons essayé dans notre étude d'évaluer l'état de stress dans le cerveau des souris exposés à des microdoses de plomb et de cadmium et de leur mixture à long terme.

Nos résultats sont mis en évidence des perturbations de l'activité des enzymes antioxydantes où nous avons constaté une augmentation très hautement significative de l'activité de la SOD cytosolique chez les souris exposées au Pb et au Cd et une augmentation hautement significative de cette enzyme chez le lot traité par la mixture. La SOD est une enzyme de groupes de métallo-enzymes qui catalysent la transformation de l'anion superoxyde en H_2O_2 et O_2 ; elle est fortement exprimée dans le cerveau (**Redler et al., 2012**). L'augmentation de l'activité de cette enzyme peut être due à la production excessive de l'anion superoxyde générée par les métaux lourds comme réponse tissulaire compensatoire pour le convertir en H_2O_2 et O_2 (**Mahino et al., 2015**). En plus des études récentes montrent qu'une mixture de Cd, Pb et de Hg à des faibles doses est capable d'améliorer la concentration cérébrale du Cu et Zn (**Cobbina et al., 2015**), qui est un cofacteur de la SOD (**Cheng et al., 2014**), avec un pourcentage égale à 31.9% (**Cobbina et al., 2015**), ce qui peut améliorer son activité.

Par ailleurs, nous avons remarqué l'apparition d'un déficit dans l'activité de la catalase chez les lots traités par le Pb et le Cd, cette enzyme travaille en synergie avec la SOD, catalysant l'hydrolyse de H_2O_2 en H_2O et O_2 . Cette inhibition peut être due à l'interaction des métaux (Cd et Pb) avec les

groupements thiol de l'enzyme, ce qui altère leur fonction catalytique (**Tobwalaet al., 2014**), en plus cette enzyme et moins exprimée dans le cerveau (**Casetta et al., 2005**). Les résultats des travaux de Woosuk et leurs collaborateurs sur des rats traités par le Cd (2mg/kg) pendant 4 semaines sont en accord avec les résultats de la présente étude (**Woosuket al., 2014**), ainsi nous suggérons que ce déséquilibre remarquable peut conduire finalement à l'accumulation de H₂O₂ dans le cytosol.

Le GSH est un antioxydant non enzymatique qui constitue l'un des moyens de défense cellulaire du premier ordre, il est considéré comme une molécule cruciale dans le système antioxydant des neurones (**Pathak and Khandelwal, 2006**). Les résultats obtenus à partir de cette étude montrent un épuisement très hautement significatif de GSH cytosolique du cerveau chez tous les lots traités par différents métaux (Cd, Pb et la mixture). En effet, le Cd libre cible le GSH cellulaire conduisant à son épuisement (**Nairet al., 2013**), d'un autre côté, le Pb inhibe l'activité de GPx qui intervient dans la synthèse de GSH et par conséquent, il minimise la concentration cytosolique de celui-ci. Les résultats obtenus des travaux de Miao et ses collaborateurs sur le foie des souris exposés chroniquement au Pb supporte l'hypothèse d'épuisement de GSH cellulaire (**Miao et al., 2016**). Cet épuisement observé dans le cerveau des patients atteints de maladie de Parkinson est impliqué dans les processus neurodégénératifs (**Lahouelet al., 2016**).

La GST est l'une des enzymes impliquées dans le métabolisme de GSH pour lutter contre le stress, elle catalyse la conjugaison de GSH avec différents xénobiotiques (**Silvaneet al. 2011**). Selon cette présente étude, il y a eu une amélioration de l'activité de GST d'une manière très hautement significative chez tous lots (Cd, Pb et la mixture). Cette augmentation peut être une réponse cellulaire adaptative pour lutter contre le stress. En effet, il ya des études qui indiquent le rôle de l'exposition chronique au cadmium dans l'amélioration de taux d'ARNm correspond au glutathion S-transférase (**Hsiao et al., 2009**), des études effectuées sur des plantes exposées au Cd montrent des résultats similaires (**Silvaneet al., 2011**). D'un autre côté, avec les propriétés redox du Fe déterminant sa participation potentielle dans les processus cytotoxiques, H₂O₂ peut oxyder le Fe²⁺ pour produire l'hydroxyde (OH[•]) qui est normalement considéré comme le produit le plus réactif et dommageable formé par la cellule à travers ce qu'on appelle la réaction de Fenton (**Farina et al., 2013 ; Lemire et al., 2013**), ceci peut créer un milieu cellulaire hautement stressé du fait que le cerveau d'une façon particulière est considéré comme un accumulateur de métaux, il se caractérise par une teneur élevée en Fe ce qui favorise la voie de fenton (**Pari and Diallyl, 2007**).

Dans un environnement hautement oxydé, créé suite à des niveaux élevés de radicaux de ROS, les lipides subissent une oxydation dans de tel milieu, et ainsi les formes oxydées de lipides appelées LPO agissent comme marqueurs du stress oxydatif dont une proportionnalité directe a été observée entre l'étendue de l'environnement oxydé à l'intérieur de la cellule et le niveau de LPO (**Haariset al., 2015**). Les résultats de la présente étude montrent une peroxydation lipidique accrue chez tous les lots traités par les différents métaux soit le Cd, le Pb ou bien la mixture, ce qui confirme le taux brûlant de stress généré dans les neurones de cerveau suite à l'exposition chronique aux métaux lourds étudiés. Un autre facteur qui favorise la peroxydation lipidique dans le cerveau est leur richesse en acide gras polyinsaturés rendant, ainsi le cerveau est l'organe le plus vulnérable au stress oxydatif (**Pari and Diallyl, 2007**).

La mitochondrie est une organelle non seulement très importante pour le bon fonctionnement des cellules, mais aussi elle constitue un site important impliqué dans l'apparition des lésions cellulaires suite à une production continue des ROS. Le changement de fonctionnement mitochondrial est un facteur important dans l'induction de stress oxydatif qui endommage ultérieurement l'ADN mitochondrial, et dans ce sens, la littérature mentionne la relation entre le dysfonctionnement mitochondrial et la probabilité de l'apparition de différentes pathologies (**Kumar and Gill, 2014**).

La présente étude indique un changement dans l'activité de la SOD et la catalase dans tous les lots traités par les métaux étudiés où nous avons constaté une augmentation significative de l'activité de la SOD chez le lot traité par le Cd. Celle-ci peut être un indice d'une production intense de l'anion superoxyde, car le Cd est capable d'induire un stress oxydatif dans les cellules du cerveau en augmentant le taux des ROS après l'interaction du Cd²⁺ avec les sites mitochondriaux, conduisant de ce fait à l'altération du potentiel mitochondrial et provoquant ainsi l'augmentation de l'activité de la SOD (**Méndez-Armenta and Rios, 2007**). Chez les deux groupes restants, les résultats obtenus prouvent l'augmentation de l'activité de la SOD et de la catalase, ce qui renforce la probabilité du rôle de la mitochondrie dans la neurotoxicité induite par les métaux étudiés.

Cependant, le mécanisme par lequel le Pb et le Cd induisent la neurotoxicité n'est pas vraiment bien clair, surtout que l'anatomie de cerveau se caractérise par la présence d'une barrière hautement sélective capable de le protéger contre différents xenobiotiques ce qui limite leur invasion par les polluants, et surtout chez l'adulte où cette barrière est complètement mature (**Méndez-Armenta and Rios, 2007**). Ainsi, chez l'adulte une très petite quantité de Cd peut atteindre le cerveau en raison de cette sélectivité (**Méndez-Armenta and Rios, 2007**), c'est la même chose pour le plomb où

sa concentration cérébrale est en fait dépendante de la maturité de cette barrière (**Toscano and Guilarte, 2005**). D'un autre côté, d'autres chercheurs suggèrent le potentiel du plomb et de cadmium à endommager cette barrière ce qui explique leur neurotoxicité (**Tobwala et al., 2014**). Un autre mécanisme possible de la neurotoxicité de ces métaux est leur capacité d'engendrer le stress oxydatif via l'augmentation du taux d'ALA (σ -aminoacide livolunique) qui est un facteur puissant capable d'induire le stress. L'accumulation de ALA dans l'organisme est due à la capacité de certains métaux lourds comme le plomb d'inhiber l'ALAD; l'enzyme qui catalyse la condensation de molécules de ALA pour synthétiser la porphyrine (**Andradet et al., 2014**). Bien avant, les études de Wang et ses collaborateurs (**2006**) soutiennent cette probabilité où ils ont prouvé la corrélation entre le taux de ALA et le stress oxydatif dans le cerveau des souris traitées par le plomb suggérant ainsi que l'accumulation de ALA est un mécanisme possible par lequel le plomb induit le stress et la neurotoxicité. D'autres chercheurs posent une bonne problématique concernant la neurotoxicité du plomb et sa relation avec le stress, où ils sont douteux si le stress est un facteur ou une conséquence de la neuro toxicité du plomb "*it is unclear whether oxidative stress is the cause or the consequence of the toxic effect of Pb*" (**Nava-Ruiz et al., 2012**).

III.Effet des métaux sur le comportement

Les changements induits par la toxicité dans le système nerveux peuvent être étudiés en un nombre de niveaux différents; électro-physiologique, neuro-chimique, morphologique et comportemental. Cependant, l'utilisation des approches comportementales est particulièrement convenable pour étudier les effets d'expositions aux toxiques sur le système nerveux (**Vanda et al., 2014**).

Les résultats de cette étude montre que la force musculaire chez les lots exposés aux métaux toxiques est plus élevé par rapport au lot témoin, ces résultats peuvent être expliquées par la différence en poids corporel entre les souris du lot témoin et ceux des lots traités par les métaux lourd ou il y a une corrélation négative entre le poids corporel et la force neuromusculaire, donc la prise du poids réduit la force neuromusculaire (**Hirota et al., 2016**).

La locomotion qui est le déplacement volontaire du corps dans l'espace a été étudiée d'une façon extensive chez l'animal, elle est le résultat d'un synergisme entre le système nerveux et l'organe effecteur, les muscles. Il est bien établi que le cortex moteur est essentiel pour contrôler les mouvements volontaires des membres et des mouvements de locomotion (**Sergiy and Trevor, 2015**) ainsi l'altération de l'activité générale de l'animal peut nous fournir une idée sur des lésions potentielle au niveau du système nerveux. Selon les résultats obtenus dans cette présente étude à

partir du test de l'*open field*, on constate une altération de l'activité locomotrice chez les animaux exposés aux métaux toxiques (Pb, Cd et la mixture) par rapport à ceux du lot témoin. Cette diminution des réponses comportementales peut être due à l'influence directe du plomb sur les neurones cholinergiques (Reddy *et al.*, 2003) et son effet inhibiteur direct sur l'AChE. Les résultats des études de Reddy et ses collaborateurs (2003) ainsi que ceux de Sansar et ses collaborateurs (2011) montrent l'apparition d'une hypoactivité chez les rats exposés au Pb, d'un autre côté, le cadmium est considéré comme un poison cellulaire puissant, qui provoque différents types de dommages, y compris la mort cellulaire. Jusqu'à présent, les effets neurotoxiques du cadmium ont été décrits comme étant attribués à des altérations sur les différents systèmes de neurotransmetteurs, parmi lesquels le système cholinergique. De cette manière, il a été signalé que le cadmium bloque la transmission cholinergique et diminue la synthèse de l'ACh par inhibition d'AChAT, en diminuant ainsi la libération d'ACh. Par ailleurs, le Cd pouvant modifier la transmission post-synaptique par augmentation ou diminution de l'activité de l'AChE en fonction de dose. Ainsi, nous pouvons conclure que l'hypoactivité observée chez le lot traité par le Cd ou la mixture peut être due soit à la capacité de cadmium à bloquer la transmission cholinergique et/ou d'induire une mort cellulaire plus prononcée sur les neurones cholinergiques du cerveau (Pino *et al.*, 2014).

La littérature documentée, suggère que le Cd peut bloquer certains canaux ioniques (Huang *et al.*, 1986), de cette façon, la conduction du potentiel d'action peut être ralentie à la fois dans les nerfs périphériques et les chemins centraux (Viaene *et al.*, 2000), par conséquent, la latence et aussi la durée inter-pics des potentiels évoqués sera allongée (Andraset *et al.*, 2003). Quoique les travaux de Gonçalves et ses collaborateurs (2012) ont montré des résultats différents par rapport à ceux observés dans cette présente étude où l'altération du test de l'*open field* n'a pas été observée (Gonçalves *et al.*, 2012), plus précisément selon leurs résultats, la diminution de l'activité n'étant pas d'une signification statistique, ceci peut être due à la différence dans la durée de leur étude chronique de 5 mois tandis que cette présente étude a été prolongée d'un mois de plus.

VI. Effet des métaux lourds sur le foie

VI.1. Altération du statut redox cytosolique

La génération des espèces réactives de l'oxygène (ROS) fait partie du métabolisme normal de la cellule, la chaîne de transport des électrons dans la mitochondrie et les lysosomes génèrent ces espèces de manière systématique (Nohlet *et al.*, 2004). Par contre, lors d'une exposition chronique aux

métaux lourds (Pb et Cd) chez les animaux, il se crée un déséquilibre entre la génération des ROS et la production des antioxydants dans le foie. Les résultats de cette présente étude confirment ce déséquilibre où nous constatons une diminution significative du taux de GSH hépatique cytosolique chez les groupes traités par le plomb et la mixture. Le GSH constitue un système antioxydant non enzymatique de première défense en se liant par sa fonction SH aux métabolites toxiques, cela peut expliquer la diminution importante du taux de GSH hépatique cytosolique. Par la présence d'une affinité particulière entre les deux métaux toxiques et les groupements SH du glutathion réduit, ce qui peut déséquilibrer la balance de sulfure cellulaire (**Belliet al., 2009 ; Attia et al., 2013**). Flora et ses collaborateurs (**2012**) ont signalé dans leur travaux qu'il y a la possibilité d'épuisement du taux de GSH, sous l'influence du plomb par l'inhibition des enzymes entrainées dans le cycle de métabolisme de GSH telles que glutathion peroxydase (GP_x), glutathion réductase (GR) et γ - glutamyl cystéine-synthétase (γ -GCS) (**Flora et al. 2012**).

Dans la présente étude, une augmentation très hautement significative de l'activité enzymatique de GST a été enregistrée dans le cytosol hépatique suite à l'exposition chronique au Pb, Cd et à leur mixture. L'élévation de cette activité pourrait être due au fait que les hépatocytes développent une réponse adaptative au stress oxydatif induit par ces deux métaux suite à leur expression génétique, ce qui conduit à l'augmentation du taux du GST au niveau des cellules hépatiques (**El-Shenawy, 2010 ; Madejczyk et al., 2015**).

La CAT est une enzyme antioxydante catalysant la conversion de H₂O₂ en O₂ et H₂O (**Cheng et al., 2014**), elle est fortement exprimée dans le foie (**Liu et al., 2009**). Une augmentation très hautement significative de la CAT cytosolique hépatique dans les groupes traités par le Plomb et la mixture par rapport au groupe témoin a été bien constatée dans cette étude. L'activité élevée de cette enzyme peut être due également à une réponse adaptative liée à l'expression accrue de cette enzyme (**Sharma et al., 2005**). En effet, les systèmes cellulaires sont susceptibles de développer une large gamme d'antioxydants, comme moyens pour lutter contre l'accumulation dangereuse des radicaux libres dans le foie, des exemples comprennent l'expression accrue des enzymes de détoxification des ROS, comme la catalase et les peroxydes dismutases, est le résultat de cette adaptation (**Jacquelyn et al., 2005**). D'autres chercheurs ont apporté des résultats similaires avec ceux obtenus dans cette présente étude où lors de l'exposition chronique des nouveaux nés du rat *Wistar* à travers une exposition périnatale aux Cd et Pb des mamans gestantes, où l'activité de la catalase a été améliorée, permettant au cerveau d'élever son pouvoir de détoxification (**Antonio et al., 2003**).

Par contre les résultats de notre étude montrent que l'exposition chronique des souris au Cd donne une diminution très hautement significative de l'activité catalasique dans le cytosol hépatique. En effet, la production accrue du peroxyde d'hydrogène peut dépasser la capacité antioxydant de la CAT et la production intense de H₂O₂, pouvant ainsi inhiber son activité (**Atliet al. 2006**), ce qui explique la diminution importante de l'activité de la catalase cytosolique chez le groupe traité par le Cd. De plus, cette diminution peut être une conséquence de la diminution de l'activité de la SOD due à une carence dans la disponibilité en cofacteurs Cu⁺⁺ et Zn⁺⁺ ce qui diminue l'activité enzymatique de la SOD cytosolique et par conséquent, la diminution de H₂O₂ peut diminuer l'activité de la CAT (**Zhaiet al., 2015**).

Les résultats de cette étude ont montré une production excessive du MDA, enregistrée chez les groupes traités par le Pb, le Cd et la mixture. La teneur élevée du cytosol en MDA est un indicateur d'une peroxydation lipidique initiée par la présence des ROS notamment l'anion hydroxyle qui attaque les doubles liaisons des acides gras composant les lipides membranaires. Ces résultats sont soutenus par les travaux de Sharma et ses collaborateurs (**2011**) qui ont démontré l'existence d'une corrélation entre l'exposition à ces deux métaux lourds et la production du MDA. Par ailleurs, d'autres travaux ont montré qu'après une coexposition de Pb et de Cd, il y a de grave altération du statut redox de la cellule hépatique, se traduisant par une surproduction des ROS (**Belli et al., 2009**). De plus, Les peroxydes de lipide inactivent des constituants cellulaires par le stress oxydant en subissant une réaction en chaîne radicalaire menant finalement à la perte d'intégrité membranaire ou d'oxydation (**Attiaetal., 2013 ; Agrawal et al., 2014**). L'attaque des acides gras polyinsaturés des lipides par ces ROS constitue le processus de fond de la déformation membranaire et la croissance de la perméabilité membranaire qui induit finalement une altération irréversible du fonctionnement de la cellule pouvant aller jusqu'à la lyse cellulaire ou l'apoptose.

VI.2. Dysfonctionnement hépatique

VI.2.1. Augmentation du taux des transaminases (TGO et TGP)

Les résultats de cette présente étude montrent une augmentation significative de l'activité enzymatique des transaminases sériques (TGO et TGP) des souris contaminées chroniquement par le Pb, le Cd et la mixture. L'augmentation de ces enzymes indique une lésion hépatique s'expliquant par la fuite de ces enzymes hépatocytaires vers le plasma via la perforation engendrée par l'altération de la perméabilité membranaire causée par le processus de la peroxydation lipidique accrue résultant du stress oxydatif (**Orabiet al., 2013 ; Attiaet al., 2013**). Ces résultats sont en accord avec d'autres

travaux élaborés sur des rats exposés à ces métaux lourds où une augmentation anormale de ces mêmes enzymes sériques a été enregistrée (**Uyanik et al., 2001 ; Pari and Murugavel, 2005**)

V.Effet des métaux lourds sur les reins

V.1. L'altération du statut redox cytosolique rénal

L'exposition chronique au Cd conduit souvent à une dysfonction rénale, Anémie, ostéoporose et fractures osseuses (**Liuet al., 2002**). Au niveau rénal, les résultats obtenus dans cette étude ont signalé une augmentation considérable de l'activité enzymatique de la CAT et de la GST après exposition chronique à ces deux métaux (Pb et Cd). Cette élévation suggère une augmentation excessive de la formation des ROS, ce qui peut stimuler l'activité de la CAT et la GST pour faire face aux dommages rénaux résultant de cette augmentation et permettre en conséquence une désintoxication cellulaire (**Orabietal.,2013 ; Vottelerd et al., 2015**).

En revanche, lors d'une contamination des animaux par les deux métaux lourds (Pb et Cd), le taux du GSH a nettement diminué expliqué par son action de neutralisation des radicaux libres générés par le Pb et le Cd (**Hansenet al., 2006**). Aussi le GSH est considéré comme un transporteur de Cd au niveau de tubule proximal rénal par la présence d'une affinité entre le Cd et les groupements thiols de GSH, cette affinité a été associée à une haute accumulation de ce métal dans les cellules épithéliales rénales par la formation des complexes Cd-GSH qui donne à son tour la réduction du taux du GSH (**Vottelerdet al., 2015**).

L'évaluation de l'effet des métaux lourds sur la peroxydation lipidique au niveau rénal montre une augmentation proportionnelle du taux de MDA cytosolique rénal (**Tarasubet al., 2011**). Une production élevée des ROS sont susceptibles d'attaquer les acides gras polyinsaturés de la membrane cytoplasmique des cellules épithéliales rénales. Le rôle du plomb et du cadmium dans la surproduction du MDA a été signalé par plusieurs auteurs (**Lopez et al., 2006 ; Patraet al., 2011**).

V.2. Evaluation de la fonction rénale

Les résultats de cette étude montrent que l'administration de plomb, de cadmium et de la mixture par voie orale augmente de façon significative la concentration sérique de créatinine et d'urée. L'augmentation du taux sérique de l'urée et de la créatinine est considérée comme des biomarqueurs de la dysfonction rénale et les dommages rénaux provoqués par le Pb et le Cd. Ces deux paramètres sont essentiels pour évaluer la fonction de la filtration glomérulaire (**Finco, 1997 ; Saka et al., 2011 ;**

Annabi et al., 2015). De plus, l'augmentation de l'urée dans le sérum est corrélée avec l'augmentation de catabolisme protéique, les protéines peuvent être dégradées en acide amine puis en urée et créatinine. Quoique nous n'ayons pas évalué les protéines sériques dans notre étude, l'augmentation de l'urée et de la créatinine renvoient à l'idée de l'insuffisance rénale dans l'excrétion de ces deux déchets du métabolisme protéique. Ces résultats corrélerent bien avec les travaux d'EL-Demerdash et ses collaborateurs (**2009**) qui ont montré eux aussi l'augmentation de ces deux indicateurs de la néphrotoxicité sous l'effet de Pb et le Cd.

CONCLUSION

Conclusion

La civilisation est une caractéristique de notre siècle, le monde se bénéficie de cette civilisation, la vie devient assez facile par rapport aux époques précédentes, mais malheureusement le monde d'une façon inconsciente est en train de payer les caprices de cette civilisation. En effet, cette civilisation a créé un problème qui s'appelle la pollution, où un énorme éventail des xénobiotiques sont libérés chaque jours dans l'environnement ce qui altère les conditions d'une vie saine et menace par conséquent la santé publique.

Le monde en développement est d'une manière particulière, le plus vulnérable par le phénomène de la pollution à cause de la fragilité ou l'inapplication de la législation protégeant l'environnement. Ainsi, comme conséquence logique, notre organisme doit se confronter à la recrudescence et l'avancée de la contamination de la matrice alimentaire par les différents xénobiotiques qui pénètrent dans l'organisme humain et animal par différentes voies en l'occurrence via l'eau, l'air et l'alimentation.

Les métaux lourds sont des xénobiotiques qui sont assez dangereux, entre autres le plomb et le cadmium qui sont classés dans la liste noire des polluants ayant un grand potentiel d'effet toxique pour l'organisme vivant.

Cette présente étude est consacrée à l'évaluation du risque toxique sur le cerveau, le foie et les reins associé à l'exposition chronique des souris au Pb et au Cd, reposant sur des doses réelles détectées dans les poissons pêchés au barrage de Beni Harone par la population riveraine comme source de protéines alimentaires.

Les résultats obtenus dans cette étude confirment l'altération de l'intégrité fonctionnelle des organes étudiés (cerveau, foie et reins) et la dégradation de l'état général des souris dont nous avons enregistré une diminution du poids corporel de tous les animaux traités. Les résultats de ce travail ont montré un déséquilibre du statut redox au profit du stress oxydatif où une lipoperoxydation a été enregistrée et également une chute de la teneur cellulaire de GSH, notamment dans le cerveau et dans certaine mesure dans le foie et le rein. Une augmentation dans le niveau neuromitochondrial des systèmes enzymatiques antioxydants, en l'occurrence la SOD et la CAT a été enregistrée. Ce qui concerne le cytosol du cerveau la présente étude a indiqué une augmentation de l'activité enzymatique de la SOD et de la GST tandis qu'un déficit remarquable de l'activité de la catalase a été constaté dans le cytosol du cerveau.

Dans le cytosol rénal et hépatique il y a une augmentation de l'activité de la catalase chez tous les lots traités à l'exception du lot traité par le Cd qui a montré au contraire une diminution très hautement significatif selon les résultats obtenus.

Les résultats des tests de comportement indiquent une diminution de l'activité des souris traitées par le Pb, le Cd et leur mixture selon les résultats du test de l'open field, le test de "Konzielas inverted screen" montre par contre une amélioration de la force musculaire chez tous les groupes.

Finalement, le bilan biochimique évaluant la fonction rénale et hépatique a montré une altération de la fonction de ces deux organes, étant donné qu'une augmentation du taux sérique de TGO, TGP,

VI. Conclusion

et créatinine chez tous les animaux traités a été constatée ainsi qu'une augmentation du taux de l'urée sanguin chez le lot traité par le cadmium.

En fin, nous pouvons dire que l'exposition chronique au Cd et au Pb et leur mixture provoque, même à des microdoses, des désordres physiologiques et biochimiques dans tous les organes étudiés.

Il s'avère que plusieurs résultats dans cette étude restent sans interprétation exhaustive vu le manque de plusieurs données concernant la mécanistique globale et particulière de cette toxicité. De ce fait, il est plus qu'indispensable de projeter des perspectives-prolongement à cette étude allant en direction de:

- L'évaluation du métabolisme des neuromédiateurs
- L'évaluation de l'intégrité et la respiration mitochondriale
- L'effet de ces métaux sur la signalisation de la voie apoptotique
- L'impact de ces métaux sur la génomique cellulaire
- Etude histologique des organes exposés à ces métaux
- Evaluation de l'apprentissage et de la mémorisation chez les jeunes et les adultes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Adams, D. H., Ju, C., Ramaiah, S. K., Uetrecht, J., & Jaeschke, H. (2010).** Mechanisms of immune-mediated liver injury. *Toxicological Sciences*, *115*(2), 307-321.
2. **Agnihotri, S. K., Agrawal, U., & Ghosh, I. (2015).** Brain most susceptible to cadmium induced oxidative stress in mice. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, *30*, 184-193.
3. **Agrawal, S., Flora, G., Bhatnagar, P., & Flora, S. J. (2014).** Comparative oxidative stress, metallothionein induction and organ toxicity following chronic exposure to arsenic, lead and mercury in rats. *Cellular & Molecular Biology (Noisy-le-grand)*, *60*(2), 13-21.
4. **Akan, J. C., Mohmoud, S., Yikala, B. S., & Ogugbuaja, V. O. (2012).** Bioaccumulation of some heavy metals in fish samples from River Benue in Vinikilang, Adamawa State, Nigeria. *American Journal of Analytical Chemistry*, *3*(11), 727-736.
5. **Al-Attar, A. M. (2011).** Vitamin E attenuates liver injury induced by exposure to lead, mercury, cadmium and copper in albino mice. *Saudi journal of biological sciences*, *18*(4), 395-401.
6. **Amamou, F., Nemmiche, S., kaouthar Meziane, R., Didi, A., Yazit, S. M., & Chabane-Sari, D. (2015).** Protective effect of olive oil and colocynth oil against cadmium-induced oxidative stress in the liver of Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*, *78*, 177-184.
7. **Andrade, V., Mateus, M. L., Batoréu, M. C., Aschner, M., & dos Santos, A. M. (2014).** Changes in rat urinary porphyrin profiles predict the magnitude of the neurotoxic effects induced by a mixture of lead, arsenic and manganese. *Neurotoxicology*, *45*, 168-177.
8. **Andràs, A., Nagymajtényi, L., & Dési, I. (2003).** A study on electrophysiological effects of subchronic cadmium treatment in rats. *Environmental toxicology and pharmacology*, *13*(3), 181-186.
9. **Annabi, A., Ines, D. B., Montassar, L., Najoua, G., & Saloua, E. F. (2015).** Oxidative stress, biochemical alterations, and hyperlipidemia in female rats induced by lead chronic toxicity during puberty and post puberty periods. *Iranian journal of basic medical sciences*, *18*(10), 1034.

10. **Antonio, M. T., Corredor, L., & Leret, M. L. (2003).** Study of the activity of several brain enzymes like markers of the neurotoxicity induced by perinatal exposure to lead and/or cadmium. *Toxicology letters*, 143(3), 331-340.
11. **Ardayfio, P., & Kim, K. S. (2006).** Anxiogenic-like effect of chronic corticosterone in the light-dark emergence task in mice. *Behavioral neuroscience*, 120(2), 249-256.
12. **Atli, G., Alptekin, Ö., Tükel, S., & Canli, M. (2006).** Response of catalase activity to Ag⁺, Cd²⁺, Cr⁶⁺, Cu²⁺ and Zn²⁺ in five tissues of freshwater fish *Oreochromis niloticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 143(2), 218-224.
13. **Attia, A. M., Ibrahim, F. A., Nabil, G. M., & Aziz, S. W. (2013).** Antioxidant effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) against lead acetate-induced hepatotoxicity in rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7(20), 1213-1219.
14. **Baudin, B. (2006).** Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *Mt Cardio*, 2(1), 43-52.
15. **Beauchamp, C., & Fridovich, I. (1971).** Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical biochemistry*, 44(1), 276-287.
16. **Begum, G. 2004.** Carbofuran insecticide induced biochemical alterations in liver and muscle tissues of the fish. *Clarias batrachus (Linnaeus)* and recovery flresponse. *Aquatique. Toxicology.*, 66: 83-92..
17. **Belli, N., Mesbah, L., Chebab, S., Tekouk, M., & Leghouchi, E. (2010).** Stress oxydant induit par la coexposition au plomb et au cadmium: deux contaminants des eaux souterraines de Oued Nil (Jijel-Algérie). *Revue des sciences de l'eau/Journal of Water Science*, 23(3), 289-301.
18. **Berthelot M.** 'Violet d'aniline' (Correspondence). *Rep Chim Appl, Soc Chim Paris* 1859; 1: 284
19. **Bo, W., & Yanli, D. (2013).** Cadmium and its neurotoxic effects. *Oxidative Med Cell Longev*, 898034, 12.
20. **Bourin, M., & Hascoët, M. (2003).** The mouse light/dark box test. *European journal of pharmacology*, 463(1), 55-65.
21. **Bower, J. J., Leonard, S. S., & Shi, X. (2005).** Conference overview: molecular mechanisms of metal toxicity and carcinogenesis. *Molecular and cellular biochemistry*, 279(1), 3-15.

22. **Bradford, M. M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
23. **Campos, A. C., Fogaca, M. V., Aguiar, D. C., & Guimaraes, F. S. (2013).** Animal models of anxiety disorders and stress. *Revista brasileira de psiquiatria*, 35, S101-S111.
24. **CEE (Communauté Economique Européenne), In : Levret D., Lehen A., Sandrine J., Mouchelin J., Berly A., 2008.** Guide pratique des substances toxiques dans les eaux douces et littorales du bassin Seine-Normandie, éditions AESN, p : 97.
25. **Chade, A. R. (2013).** Renal vascular structure and rarefaction. *Comprehensive Physiology*.
26. **Chen, L., Xu, B., Liu, L., Luo, Y., Zhou, H., Chen, W., ... & Huang, S. (2011).** Cadmium induction of reactive oxygen species activates the mTOR pathway, leading to neuronal cell death. *Free Radical Biology and Medicine*, 50(5), 624-632.
27. **Cheng, P., Wang, X., Chen, J., Jiao, R., Wang, L., Li, Y. M., ...& Huang, Y. (2014).** Biology of ageing and role of dietary antioxidants. *BioMed research international*, 2014.
28. **Chiarelli, R., & Roccheri, M. C. (2012).** Heavy metals and metalloids as autophagy inducing agents: focus on cadmium and arsenic. *Cells*, 1(3), 597-616.
29. **Chin-ju, J. H., & Stapleton, S. R. (2009).** Early sensing and gene expression profiling under a low dose of cadmium exposure. *Biochimie*, 91(3), 329-343.
30. **Cho, M. R., Kang, H. G., Jeong, S. H., & Cho, M. H. (2010).** Time-dependent Changes of Cadmium and Metallothionein after Short-term Exposure to Cadmium in Rats. *Toxicological research*, 26(2), 131.
31. **Churg, A., Brauer, M., del Carmen Avila-Casado, M., Fortoul, T. I., & Wright, J. L. (2003).** Chronic exposure to high levels of particulate air pollution and small airway remodeling. *Environmental health perspectives*, 111(5), 714.
32. **Claiborne, A. (1985).** In RA Greenwald. *Handbook of methods for oxygen radical research*, 283-284.
33. **Clark, J. M., Brancati, F. L., & Diehl, A. M. (2003).** The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States. *The American journal of gastroenterology*, 98(5), 960-967.
34. **Cobbina, S. J., Chen, Y., Zhou, Z., Wu, X., Feng, W., Wang, W., ...& Yang, L. (2015).** Low concentration toxic metal mixture interactions: effects on essential and

- non-essential metals in brain, liver, and kidneys of mice on sub-chronic exposure. *Chemosphere*, 132, 79-86.
35. **Cobbina, S. J., Chen, Y., Zhou, Z., Wu, X., Zhao, T., Zhang, Z. & Yang, L. (2015).** Toxicity assessment due to sub-chronic exposure to individual and mixtures of four toxic heavy metals. *Journal of Hazardous materials*, 294, 109-120.
36. **Concepción, N.R., & Méndez-Armenta, M. (2013).** Cadmium, lead, thallium: occurrence, neurotoxicity and histopathological changes of the nervous system. In *Pollutant Diseases, Remediation and Recycling* (pp. 321-349). Springer International Publishing.
37. **Crawley, J. N., Collins, J.K. B. A., Crabbe, J.C., Henderson, W.F.N., Maxson, R.J.H.S.C., Silva, L.L. M. A.J., Wynshaw-Boris, J.M.W. A., Paylor, R., 1997.** Behavioral phenotypes of inbred mouse strains: implications and recommendations for molecular studies. *Psychopharmacology*, 132 : 107–124.
38. **Crépeaux, G., Bouillaud-Kremarik, P., Sikhayeva, N., Rychen, G., Soulimani, R., & Schroeder, H. (2012).** Late effects of a perinatal exposure to a 16 PAH mixture: Increase of anxiety-related behaviours and decrease of regional brain metabolism in adult male rats. *Toxicology letters*, 211(2), 105-113.
39. **Cuypers, A., Plusquin, M., Remans, T., Jozefczak, M., Keunen, E., Gielen, H., ... & Nawrot, T. (2010).** Cadmium stress: an oxidative challenge. *Biometals*, 23(5), 927-940.
40. **de l'Anses, A. (2012).** Valeur toxicologique de référence pour le cadmium et ses composés .27,1-86
41. **Deacon, R. M. (2013).** Measuring the strength of mice. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (76): 1-4.
42. **Del Pino, J., Zeballos, G., Anadon, M. J., Capo, M. A., Díaz, M. J., García, J., & Frejo, M. T. (2014).** Higher sensitivity to cadmium induced cell death of basal forebrain cholinergic neurons: a cholinesterase dependent mechanism. *Toxicology*, 325, 151-159.
43. **Djellit, R. (2014).** Evaluation de la variation spatiotemporelle de la réponse biologique de l'espèce *Carassius carassius* à la pollution des eaux du Barrage Béni Haroun. Mémoire de master en biologie, option : environnement et santé, p : 44.
44. **EFSA (European Food Safety Authority) 2011.** Guidance on Default assumptions used by the EFSA Scientific Panels and Committee, and EFSA Units in the absence of actual measured data : 1-30.

45. **Elaine N.M.**, Biologie humaine. Person. 2^{ème} édition, 2008, France.p : 547.
46. El-Demerdash, F. M., Yousef, M. I., & Radwan, F. M. (2009). Ameliorating effect of curcumin on sodium arsenite-induced oxidative damage and lipid peroxidation in different rat organs. *Food and Chemical Toxicology*, 47(1), 249-254.
47. **Ellman, G.L. (1959)**.Tissue sulfhydryl groups. Archives of Biochemistry and Biophysics. 74: 214-226
48. **El-Shenawy, N. S. (2010)**. Effects of insecticides fenitrothion, endosulfan and abamectin on antioxidant parameters of isolated rat hepatocytes. *Toxicology in Vitro*, 24(4), 1148-1157.
49. **Ennaceur, A., & Chazot, P. L. (2016)**.Preclinical animal anxiety research—flaws and prejudices. *Pharmacology research & perspectives*, 4(2).
50. **Farina, M., Avila, D. S., Da Rocha, J. B. T., & Aschner, M. (2013)**. Metals, oxidative stress and neurodegeneration: a focus on iron, manganese and mercury. *Neurochemistry international*, 62(5), 575-594.
51. **Finco, D. R. (1997)**. Kidney function. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 4, 496-542.
52. **Flora, G., Gupta, D., Tiwari, A.(2012)**.Toxicity of lead. *Interdisciplinary Toxicology*, 5(2): 47–58.
53. **Food and agriculture organization (FOW) of the United Nations (WHO) world health organization. Joint FAO /WHO.,2011**.Expert consultation on the risks and benefits of fish consumption.
54. **Garnier, R., Langrand, J., Carré, N. (2013)**. Effets du plomb sur la santé, lorsque la plombémie est inférieure à 100 µg/L. *JRVS Ile-de-France*, 2013 :1- 18.
55. **Gasmi, Y., Ouali, K., Rouachdia, R., Kati, W., Denizot, J., & Bensouilah, M. (2010)**. Effets Du Cadmium Sur L’activite De L’acetylcholinesterase Et Sur Les Cellules Ciliees Du Systeme De La Ligne Laterale De Gambusia Affinis (Poisson, Teleosteen). *Sciences & Technologie C*, (32), 59-65.
56. **Gérard, G.T., Bryan, D. (2009)**. manuel d’anatomie et physiologie humains, science médicales.France.p:482-483.
57. **Gillis, B. S., Arbieva, Z., & Gavin, I. M. (2012)**. Analysis of lead toxicity in human cells. *BMC genomics*, 13(1), 344.
58. **Gobe, G., & Crane, D. (2010)**. Mitochondria, reactive oxygen species and cadmium toxicity in the kidney. *Toxicology letters*, 198(1), 49-55.

59. **Gonçalves, J. F., Nicoloso, F. T., da Costa, P., Farias, J. G., Carvalho, F. B., da Rosa, M. M., ... & Barbosa, N. B. (2012).** Behavior and brain enzymatic changes after long-term intoxication with cadmium salt or contaminated potatoes. *Food and Chemical Toxicology*, 50(10), 3709-3718.
60. **González, J., Valls, N., Brito, R., & Rodrigo, R. (2014).** Essential hypertension and oxidative stress: new insights. *World journal of cardiology*, 6(6), 353.
61. **Gould, T D., 2009.** Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice: Characterization Using Behavioral Tests, neuromethode 42 .springer protocols. Humanapress, p : 55.
62. **Goullé J P., Sausseureau E., Lacroix C.,Guerbet M., 2012.** Traité de toxicologie médico-judiciaire. Elsevier Masson. P :734.
63. **Grara, N., Boucenna, M., Atailia, A., Berrebbah, H., & Djebbar, M. R. (2012).** Stress oxydatif des poussières métalliques du complexe sidérurgique d'Annaba (Nord-Est algérien) chez l'escargot *Helix aspersa*. *Environnement, Risques & Santé*, 11(3), 221-229.
64. **Greco, M., Chiappetta, A., Bruno, L., & Bitonti, M. B. (2011).** In *Posidonia oceanica* cadmium induces changes in DNA methylation and chromatin patterning. *Journal of experimental botany*, 63(2), 695-709.
65. **Gumpu, M. B., Sethuraman, S., Krishnan, U. M., & Rayappan, J. B. B. (2015).** A review on detection of heavy metal ions in water—An electrochemical approach. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 213, 515-533.
66. **Haaris, M. A., & Parvez, S. (2015).** Hesperidin ameliorates heavy metal induced toxicity mediated by oxidative stress in brain of Wistar rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 31, 53-60.
67. **Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974).** Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry*, 249(22), 7130-7139.
68. **Habuka, M., Fagerberg, L., Hallström, B. M., Kampf, C., Edlund, K., Sivertsson, Å., ...& Odeberg, J. (2014).** The kidney transcriptome and proteome defined by transcriptomics and antibody-based profiling. *PLoS One*, 9(12), e116125.
69. **Hansen, J. M., Zhang, H., & Jones, D. P. (2006).** Differential oxidation of thioredoxin-1, thioredoxin-2, and glutathione by metal ions. *Free Radical Biology and Medicine*, 40(1), 138-145.

70. **Hartwig, A. (1994).** Role of DNA repair inhibition in lead-and cadmium-induced genotoxicity: a review. *Environmental health perspectives*, 102(Suppl 3), 45.
71. **Hekimi, S., Lapointe, J., & Wen, Y. (2011).** Taking a “good” look at free radicals in the aging process. *Trends in cell biology*, 21(10), 569-576.
72. **Hirota, S., Takao, K., Hattori, S., & Miyakawa, T. (2016).** Age-related changes in behavior in C57BL/6J mice from young adulthood to middle age. *Molecular brain*, 9(1), 11.
73. **Holmes, A., Iles, J. P., Mayell, S. J., & Rodgers, R. J. (2001).** Prior test experience compromises the anxiolytic efficacy of chlordiaz epoxide in the mouse light/dark exploration test. *Behavioural brain research*, 122(2), 159-167.
74. **Huang, Y., Quayle, J. M., Worley, J. F., Standen, N. B., & Nelson, M. T. (1989).** External cadmium and internal calcium block of single calcium channels in smooth muscle cells from rabbit mesenteric artery. *Biophysical journal*, 56(5), 1023-1028.
75. **Iqbal, M., Sharma, S. D., Okazaki, Y., Fujisawa, M., & Okada, S. (2003).** Dietary supplementation of curcumin enhances antioxidant and phase II metabolizing enzymes in ddY male mice: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 92(1), 33-38.
76. **Jacquelyn, B. J., Leonard, S. S., & Shi, X. (2005).** Conference overview: molecular mechanisms of metal toxicity and carcinogenesis. *Molecular and cellular biochemistry*, 279(1), 3-15.
77. **Jacques, P., Claude, P. (2000).** toxicité des métaux. *toxicology*, 2000: 35–43.
78. **Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B. B., & Beeregowda, K. N. (2014).** Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary toxicology*, 7(2), 60-72.
79. **Järup, L. (2003).** Hazards of heavy metal contamination. *British medical bulletin*, 68(1), 167-182.
80. **Kalueff, A. V., Keisala, T., Minasyan, A., Kumar, S. R., LaPorte, J. L., Murphy, D. L., & Tuohimaa, P. (2008).** The regular and light–dark Suok tests of anxiety and sensorimotor integration: utility for behavioral characterization in laboratory rodents. *Nature protocols*, 3(1), 129-136.
81. **Kansal, L., Sharma, V., Sharma, A., Lodi, S., & Sharma, S. H. (2011).** Protective role of *coriandrum sativum* (coriander) extracts against lead nitrate induced oxidative stress and tissue damage in the liver and kidney in male mice.

82. **Kaoud, H. A., & Mekawy, M. M. (2011).** Effect of cadmium pollution on neuromorphology and function of brain in mice offspring. *Nature Sci*, 9, 28-35.
83. **Keizo, T., & Tsuyoshi, M. (2006).** Light/dark transition test for mice. *Journal of visualized experiments: Jo VE*, (1).
84. **Klaassen, C. D., Liu, J., & Diwan, B. A. (2009).** Metallothionein protection of cadmium toxicity. *Toxicology and applied pharmacology*, 238(3), 215-220.
85. **Kumar, V., & Gill, K. D. (2014).** Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in aluminium neurotoxicity and its amelioration: a review. *Neurotoxicology*, 41, 154-166.
86. **Kupsco, A., & Schlenk, D. (2015).** Chapter One-Oxidative Stress, Unfolded Protein Response, and Apoptosis in Developmental Toxicity. *International review of cell and molecular biology*, 317, 1-66.
87. **Lahouel, A., Kebieche, M., Lakroun, Z., Rouabhi, R., Fetoui, H., Chtourou, Y., ... & Soulimani, R. (2016).** Neurobehavioral deficits and brain oxidative stress induced by chronic low dose exposure of persistent organic pollutants mixture in adult female rat. *Environmental science and pollution research international*, 23(19), 19030-19040.
88. **Larsen, K. (1972).** Creatinine assay by a reaction-kinetic principle. *Clinica chimica acta*, 41, 209-217.
89. **Lavallard, V. J., & Gual, P. (2014).** Autophagy and non-alcoholic fatty liver disease. *BioMed research international*, 2014.
90. **Lemire J A., Harrison J J., Turner R J., 2013.** Box 3: The Fenton reaction, free radical chemistry and metal poisoning. *Nature Reviews Microbiology*, 11:371–384
91. **Lion, G. N., & Olowoyo, J. O. (2013).** Population health risk due to dietary intake of toxic heavy metals from *Spinacia oleracea* harvested from soils collected in and around Tshwane, South Africa. *South African journal of botany*, 88, 178-182.
92. **Liu, J., Kadiiska, M. B., Corton, J. C., Qu, W., Waalkes, M. P., Mason, R. P., ... & Klaassen, C. D. (2002).** Acute cadmium exposure induces stress-related gene expression in wild-type and metallothionein-I/II-null mice. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(6), 525-535.
93. **Liu, J., Qu, W., & Kadiiska, M. B. (2009).** Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis. *Toxicology and applied pharmacology*, 238(3), 209-214.

94. Liu, Y., Adachi, M., Zhao, S., Hareyama, M., Koong, A. C., Luo, D., ...& Shinomura, Y. (2009). Preventing oxidative stress: a new role for XBP1. *Cell Death & Differentiation*, 16(6), 847-857.
95. Lopez, E., Arce, C., Oset-Gasque, M. J., Canadas, S., & Gonzalez, M. P. (2006). Cadmium induces reactive oxygen species generation and lipid peroxidation in cortical neurons in culture. *Free Radical Biology and Medicine*, 40 (6), 940-951.
96. Lopez, E., Figueroa, S., Oset-Gasque, M. J., & Gonzalez, M. P. (2003). Apoptosis and necrosis: two distinct events induced by cadmium in cortical neurons in culture. *British journal of pharmacology*, 138(5), 901-911.
97. Lü, J. M., Lin, P. H., Yao, Q., & Chen, C. (2010). Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *Journal of cellular and molecular medicine*, 14(4), 840-860.
98. Luczak, M. W., & Zhitkovich, A. (2013). Role of direct reactivity with metals in chemoprotection by N-acetylcysteine against chromium (VI), cadmium (II), and cobalt (II). *Free Radical Biology and Medicine*, 65, 262-269.
99. Madejczyk, M. S., Baer, C. E., Dennis, W. E., Minarchick, V. C., Leonard, S. S., Jackson, D. A., ... & Lewis, J. A. (2015). Temporal changes in rat liver gene expression after acute cadmium and chromium exposure. *PloS one*, 10 (5), e0127327.
100. Mahino, F., Usmani, N., Firdaus, F., Zafeer, M. F., Ahmad, S., Akhtar, K., ...& Hossain, M. M. (2015). In vivo induction of antioxidant response and oxidative stress associated with genotoxicity and histopathological alteration in two commercial fish species due to heavy metals exposure in northern India (Kali) river. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 176, 17-30.
101. Malaviya, R., Laskin, J. D., & Laskin, D. L. (2014). Oxidative stress-induced autophagy: role in pulmonary toxicity. *Toxicology and applied pharmacology*, 275(2), 145-151.
102. Malaviya, R., Laskin, J. D., & Laskin, D. L. (2014). Oxidative stress-induced autophagy: role in pulmonary toxicity. *Toxicology and applied pharmacology*, 275 (2), 145-151.
103. Marcel, D. (2013). Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830(5), 3217-3266.

104. **Mason, L. H., Harp, J. P., & Han, D. Y. (2014).** Pb neurotoxicity: neuropsychological effects of lead toxicity. *BioMed research international*, 2014.
105. **Mates, J. M. (2000).** Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153(1), 83-104.
106. **Matés, J. M., José, M., Sánchez-Jiménez, F., 1999.** Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Frontiers in Bioscience*, 4: 339-345.
107. **Mélila, M., Poutouli, W., Amouzou, K. S., Tchangbédji, G., Tchaou, M., Doh, A., & Goto, C. (2012).** Induction du stress oxydatif chez l'homme suite à la bioconcentration des éléments traces métalliques (cadmium et plomb) par voie trophique à Kpémé (Sud du Togo). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6(3), 1263-1270.
108. **Méndez-Armenta, M., & Ríos, C. (2007).** Cadmium neurotoxicity. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 23(3), 350-358.
109. **Messner, B., Türkcan, A., Ploner, C., Laufer, G., & Bernhard, D. (2016).** Cadmium overkill: autophagy, apoptosis and necrosis signalling in endothelial cells exposed to cadmium. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73, 1699.
110. **Mhina, M. P. (2016).** *Quantification and health implications of selected heavy metals in Lake Victoria, Tanzania* (Doctoral dissertation, Sokoine University of Agriculture).
111. **Miao, L., Liu, Y., Cao, Y., Wang, N., Dang, M., & He, J. (2016).** Proanthocyanidins Attenuation of Chronic Lead-Induced Liver Oxidative Damage in Kunming Mice via the Nrf2/ARE Pathway. *Nutrients*, 8(10), 656.
112. **Morin Y., 2006.** Larousse médical. édition 2003, Pris.
113. **Morin, G., Ostergren, J. D., Juillot, F., Ildefonse, P., Calas, G., & Brown, G. E. (1999).** XAFS determination of the chemical form of lead in smelter-contaminated soils and mine tailings: Importance of adsorption processes. *American Mineralogist*, 84(3), 420-434.
114. **Moron, M. S., Depierre, J. W., & Mannervik, B. (1979).** Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in rat lung and liver. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 582(1), 67-78.
115. **Moron, M. S., Depierre, J. W., & Mannervik, B. (1979).** Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in rat lung and liver. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 582(1), 67-78.

116. **Nair, A. R., DeGheselle, O., Smeets, K., Van Kerkhove, E., & Cuypers, A. (2013).** Cadmium-induced pathologies: where is the oxidative balance lost (or not)?. *International journal of molecular sciences*, 14(3), 6116-6143.
117. **Nava-Ruiz, C., Méndez-Armenta, M., & Ríos, C. (2012).** Lead neurotoxicity: effects on brain nitric oxide synthase. *Journal of molecular histology*, 43(5), 553.
118. **Niehaus, W. G., & Samuelsson, B. (1968).** Formation of malonaldehyde from phospholipid arachidonate during microsomal lipid peroxidation. *The FEBS Journal*, 6(1), 126-130.
119. **Nohl, H., Gille, L., & Staniek, K. (2004).** The mystery of reactive oxygen species derived from cell respiration. *ACTA BIOCHIMICA POLONICA-ENGLISH EDITION-*, 223-230.
120. **Nordberg, G. F. (2004).** Cadmium and health in the 21st century—historical remarks and trends for the future. *Biometals*, 17(5), 485-489.
121. **Nriagu, J. O. (1996).** A history of global metal pollution. *Science*, 272(5259), 223.
122. **Orabi, S. H., Elbially, B. E., & Shawky, S. M. (2013).** Ameliorating and hypoglycemic effects of zinc against acute hepatotoxic effect of chlorpyrifos. *Global Veterinaria*, 10(4), 439-446.
123. **Oszlanczi, G., Horváth, E., Szabó, A., Horváth, E., Sápi, A., Kozma, G., ...& Papp, A. (2010).** Subacute exposure of rats by metal oxide nanoparticles through the airways: general toxicity and neuro-functional effects. *Acta Biologica Szegediensis*, 54(2), 165-170.
124. **Pal, P. B., Sinha, K., & Sil, P. C. (2013).** Mangiferin, a natural xanthone, protects murine liver in Pb (II) induced hepatic damage and cell death via MAP kinase, NF-κB and mitochondria dependent pathways. *PloS one*, 8(2), e56894.
125. **Pari, L., & Murugavel, P. (2005).** Role of diallyl tetrasulfide in ameliorating the cadmium induced biochemical changes in rats. *Environmental toxicology and pharmacology*, 20(3), 493-500.
126. **Pari, L., & Murugavel, P. (2007).** Diallyl tetrasulfide improves cadmium induced alterations of acetylcholinesterase, ATPases and oxidative stress in brain of rats. *Toxicology*, 234(1), 44-50.

127. **Pari, L., & Shagirtha, K. (2012).** Hesperetin protects against oxidative stress related hepatic dysfunction by cadmium in rats. *Experimental and toxicologic pathology*, 64(5), 513-520.
128. **Pathak, N., & Khandelwal, S. (2006).** Influence of cadmium on murine thymocytes: potentiation of apoptosis and oxidative stress. *Toxicology letters*, 165(2), 121-132.
129. **Patra, R. C., Rautray, A. K., & Swarup, D. (2011).** Oxidative stress in lead and cadmium toxicity and its amelioration. *Veterinary medicine international*, 2011.
130. **Patri, M., Padmini, A., & Babu, P. P. (2010).** Polycyclic aromatic hydrocarbons in air and their neurotoxic potency in association with oxidative stress: a brief perspective. *Annals of Neurosciences*, 16(1), 22-30.
131. **Pi, H., Xu, S., Reiter, R. J., Guo, P., Zhang, L., Li, Y., & Zhang, R. (2015).** SIRT3-SOD2-mROS-dependent autophagy in cadmium-induced hepatotoxicity and salvage by melatonin. *Autophagy*, 11(7), 1037-1051.
132. **Prozialeck, W. C., & Edwards, J. R. (2012).** Mechanisms of cadmium-induced proximal tubule injury: new insights with implications for biomonitoring and therapeutic interventions. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 343(1), 2-12.
133. **Reckziegel, P., Dias, V. T., Benvegnú, D. M., Bouffleur, N., Barcelos, R. C. S., Segat, H. J., ... & Bürger, M. E. (2016).** Antioxidant protection of gallic acid against toxicity induced by Pb in blood, liver and kidney of rats. *Toxicology Reports*, 3, 351-356.
134. **Reddy, G. R., Basha, M. R., Devi, C. B., Suresh, A., Baker, J. L., Shafeek, A., ... & Chetty, C. S. (2003).** Lead induced effects on acetylcholinesterase activity in cerebellum and hippocampus of developing rat. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 21(6), 347-352.
135. **Redler, R. L., & Dokholyan, N. V. (2012).** The complex molecular biology of amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Progress in molecular biology and translational science*, 107, 215.
136. **Reitman, S., & Frankel, S. (1957).** A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *American journal of clinical pathology*, 28(1), 56-63.
137. **Sahu, B. D., Koneru, M., Bijargi, S. R., Kota, A., & Sistla, R. (2014).** Chromium-induced nephrotoxicity and ameliorative effect of carvedilol in

- rats: Involvement of oxidative stress, apoptosis and inflammation. *Chemico-biological interactions*, 223, 69-79.
138. **Saka, S., Bahi, A., & Aouacheri, W. (2011).** L'effet du stress oxydant induit par l'acétate de plomb sur le système enzymatique du glutathion chez les rats. In *Annales de Toxicologie Analytique* (Vol. 23, No. 3, pp. 139-145). EDP Sciences.
139. **Salińska, A., Włostowski, T., Maciak, S., Łaszkiwicz-Tiszczenko, B., & Kozłowski, P. (2012).** Combined effect of dietary cadmium and benzo (a) pyrene on metallothionein induction and apoptosis in the liver and kidneys of bank voles. *Biological trace element research*, 147(1), 189-194.
140. **Samuel, J. B., Stanley, J. A., Princess, R. A., Shanthi, P., & Sebastian, M. S. (2011).** Gestational cadmium exposure-induced ovotoxicity delays puberty through oxidative stress and impaired steroid hormone levels. *Journal of Medical Toxicology*, 7(3), 195-204.
141. **Sanders, T., Liu, Y., Buchner, V., & Tchounwou, P. B. (2009).** Neurotoxic effects and biomarkers of lead exposure: a review. *Reviews on environmental health*, 24(1), 15-46.
142. **Sansar, W., Ahboucha, S., & Gamrani, H. (2011).** Chronic lead intoxication affects glial and neural systems and induces hypoactivity in adult rat. *Acta histochemica*, 113(6), 601-607.
143. **Sergiy, Y., & Drew, T. (2015).** Similar motor cortical control mechanisms for precise limb control during reaching and locomotion. *Journal of Neuroscience*, 35(43), 14476-14490.
144. **Shagirtha, K., & Pari, L. (2011).** Hesperetin, a citrus flavonone, protects potentially cadmium induced oxidative testicular dysfunction in rats. *Ecotoxicology and environmental safety*, 74(7), 2105-2111.
145. **Shagirtha, K., Muthumani, M., & Prabu, S. M. (2011).** Melatonin abrogates cadmium induced oxidative stress related neurotoxicity in rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 15(9), 1039-1050.
146. **Sharma, V., Sharma, S., & Pracheta, S. S. (2011).** Lead induced hepatotoxicity in male Swiss albino mice: The protective potential of the hydromethanolic extract of *Withania somnifera*. *Int. J. Pharmaceu. Sci. Rev. Res*, 7, 116-121.

147. **Sharma, Y., Bashir, S., Irshad, M., Gupta, S. D., & Dogra, T. D. (2005).** Effects of acute dimethoate administration on antioxidant status of liver and brain of experimental rats. *Toxicology*, 206(1), 49-57.
148. **Sheril, D., Limson, J. L., Dairam, A., Watkins, G. M., & Daya, S. (2004).** Through metal binding, curcumin protects against lead-and cadmium-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates and against lead-induced tissue damage in rat brain. *Journal of inorganic biochemistry*, 98(2), 266-275.
149. **Sherwood, A. (2007).** Physiologie humaine. de boeck. 2^{em} édition. P : 110-111.
150. **Sibernagl, S., Desopoulos, A., (1996).** Physiologie. Médecine-Sciences Flammarion Médecine-Sciences, Paris, 2^{ème} édition, p120-153.
151. **Sidhu, K. S. (2003).** Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 38(3), 336-344.
152. **Silvane, V., Cambraia, J., Ribeiro, C., Oliveira, J. A., & Oliva, M. A. (2011).** Cadmium-induced oxidative stress and antioxidative enzyme response in water hyacinth and salvinia. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 23(2), 131-139.
153. **Skipper, A., Sims, J. N., Yedjou, C. G., & Tchounwou, P. B. (2016).** Cadmium chloride induces DNA damage and apoptosis of human liver carcinoma cells via oxidative stress. *International journal of environmental research and public health*, 13(1), 88.
154. **Smith, A.M., Schnellmann, G.R., (2012).** Calpains, mitochondria, and apoptosis. *Cardiovascular Research*, 96: 32–37.
155. **Soazig, L., Simard, G., Martinez, M. C., & Andriantsitohaina, R. (2014).** Oxidative stress and metabolic pathologies: from an adipocentric point of view. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014.
156. **Son, Y. O., Wang, X., Hitron, J. A., Zhang, Z., Cheng, S., Budhraj, A., ...& Shi, X. (2011).** Cadmium induces autophagy through ROS-dependent activation of the LKB1–AMPK signaling in skin epidermal cells. *Toxicology and applied pharmacology*, 255(3), 287-296.
157. **Tarasub, N., Junseecha, T., Tarasub, C., & Ayutthaya, W. D. N. (2012).** Protective effects of curcumin, vitamin C, or their combination on cadmium-induced hepatotoxicity. *Journal of basic and clinical pharmacy*, 3(2), 273.
158. **Tarasub, N., Tarasub, C., & Ayutthaya, W. D. N. (2011).** Protective role of curcumin on cadmium-induced nephrotoxicity in rats. *Journal of environmental chemistry and ecotoxicology*, 3(2), 17-24.

159. **Tatem, K. S., Quinn, J. L., Phadke, A., Yu, Q., Gordish-Dressman, H., & Nagaraju, K. (2014).** Behavioral and locomotor measurements using an open field activity monitoring system for skeletal muscle diseases. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (91).
160. **Tatem, K. S., Quinn, J. L., Phadke, A., Yu, Q., Gordish-Dressman, H., & Nagaraju, K. (2014).** Behavioral and locomotor measurements using an open field activity monitoring system for skeletal muscle diseases. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (91).
161. **Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., & Sutton, D. J. (2012).** Heavy metal toxicity and the environment. In *Molecular, clinical and environmental toxicology* (pp. 133-164). Springer Basel.
162. **Tobwala, S., Wang, H. J., Carey, J. W., Banks, W. A., & Ercal, N. (2014).** Effects of lead and cadmium on brain endothelial cell survival, monolayer permeability, and crucial oxidative stress markers in an in vitro model of the blood-brain barrier. *Toxics*, 2(2), 258-275.
163. **Tsai, S. M., Wang, T. N., & Ko, Y. C. (1999).** Mortality for certain diseases in areas with high levels of arsenic in drinking water. *Archives of Environmental Health: An International Journal*, 54(3), 186-193.
164. **Uyanik, F., Eren, M., Atasever, A., Tuncoku, G., & Kolsiz, A. H. (2001).** CHANGES IN SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS AND ORGANS OF BROILERS EXPOSED TO CADMIUM AND EFFECT OF ZINC ON CADMIUM INDUCED ALTERATIONS. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 56(4), 128-134.
165. **Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
166. **Velasquez-Vottelerd, P., Anton, Y., & Salazar-Lugo, R. (2015).** Cadmium affects the mitochondrial viability and the acid soluble thiols concentration in liver, kidney, heart and gills of *Ancistrus brevifilis* (Eigenmann, 1920). *Open veterinary journal*, 5(2), 166-172.
167. **Viaene, M. K., Masschelein, R., Leenders, J., De Groof, M., Swerts, L. J. V. C., & Roels, H. A. (2000).** Neurobehavioural effects of occupational exposure to cadmium: a cross sectional epidemiological study. *Occupational and environmental medicine*, 57(1), 19-27.

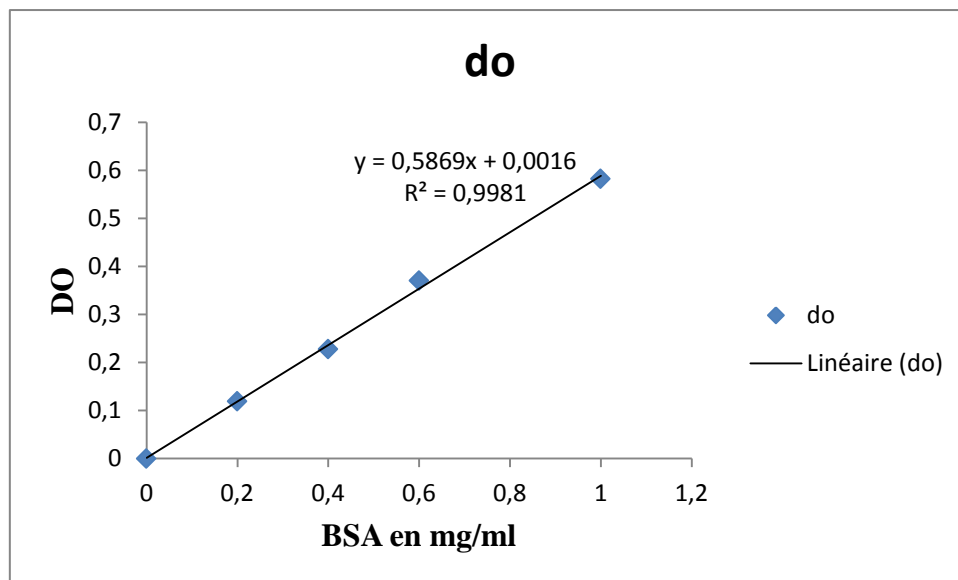
168. **Vibert, J F.**, Sébille, A., Lavallard-Rousseau, M C., Boureau, F.(2005). Neurophysiologie : de la physiologie à l'exploration fonctionnelle. Compus illustré Elsevier. P : 1
169. **Wang, J., Wu, J., & Zhang, Z. (2006).** Oxidative stress in mouse brain exposed to lead. *Annals of Occupational Hygiene*, 50(4), 405-409.
170. **Wang, K. (2015).** Autophagy and apoptosis in liver injury. *Cell cycle*, 14(11), 1631-1642.
171. **Whiteside, J. R., Box, C. L., McMillan, T. J., & Allinson, S. L. (2010).** Cadmium and copper inhibit both DNA repair activities of polynucleotide kinase. *DNA repair*, 9(1), 83-89.
172. **Woods, J. S., Bowers, M. A., & Davis, H. A. (1991).** Urinary porphyrin profiles as biomarkers of trace metal exposure and toxicity: studies on urinary porphyrin excretion patterns in rats during prolonged exposure to methyl mercury. *Toxicology and applied pharmacology*, 110(3), 464-476.
173. **Woosuk, K., Kim, D. W., Yoo, D. Y., Jung, H. Y., Nam, S. M., Kim, J. W., ... & Yoon, Y. S. (2014).** Dendropanax morbifera Léveille extract facilitates cadmium excretion and prevents oxidative damage in the hippocampus by increasing antioxidant levels in cadmium-exposed rats. *BMC complementary and alternative medicine*, 14(1), 428.
174. **Wyly, GN. R., & Pedraza-Chaverri, J. (2014).** Protective effect of curcumin against heavy metals-induced liver damage. *Food and chemical toxicology*, 69, 182-201.
175. **Yan, Y. U. A. N., BIAN, J. C., LIU, X. Z., ZHANG, Y., Ya, S. U. N., & LIU, Z. P. (2012).** Oxidative stress and apoptotic changes of rat cerebral cortical neurons exposed to cadmium in vitro. *Biomedical and Environmental Sciences*, 25(2), 172-181.
176. **Yang, H., & Shu, Y. (2015).** Cadmium transporters in the kidney and cadmium-induced nephrotoxicity. *International journal of molecular sciences*, 16(1), 1484-1494.
177. **Yildirim, N. C., Benzer, F., & Danabas, D. (2011).** Evaluation of environmental pollution at Munzur River of Tunceli applying oxidative stress biomarkers in *Capoeta trutta* (Heckel, 1843). *The journal of Animal & plant sciences*, 21(1), 66.

178. **Yuksel, K. (2012).** Effects of fluoride on anxiety and depression in mice. *Fluoride*, 45(3), 302-6.
179. **Zhai, Q., Narbad, A., & Chen, W. (2015).** Dietary strategies for the treatment of cadmium and lead toxicity. *Nutrients*, 7(1), 552-571.
180. **Zhu, H., Zhang, L., Amin, A. R., & Li, Y. (2008).** Coordinated upregulation of a series of endogenous antioxidants and phase 2 enzymes as a novel strategy for protecting renal tubular cells from oxidative and electrophilic stress. *Experimental biology and medicine*, 233(6), 753-765.

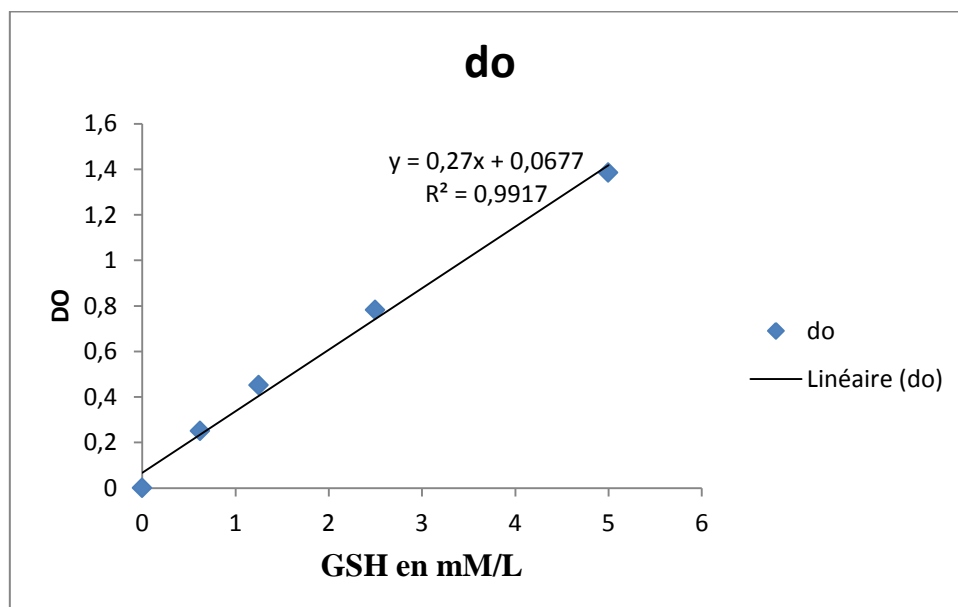
ANNEXE

Annexe

Annexe 01 : La courbe d'étalonnage des protéines



Annexe 02 : La courbe d'étalonnage de GSH.



Résumé

L'humanité connaît un grand développement industriel ce qui améliore le mode de vie. Mais malheureusement, ceci est associé avec la pollution qui est susceptible d'exposer la santé publique à une panoplie de maladies chroniques en menaçant ainsi la population générale. Le cadmium(Cd) et le plomb(Pb) sont des métaux lourds hautement toxiques. Ils s'accumulent dans les tissus biologiques, notamment chez les poissons qui constituent une matrice biologique alimentaire du premier rang. L'objectif de ce travail est l'évaluation de l'effet toxique nerveux, rénale et hépatique après exposition à des micros doses de ces métaux et leur mixture qui sont enregistrées chez les poissons cultivés dans le barrage de Beni Haroun. Cette étude a été réalisée sur un modèle de souris exposées à des doses de Cd et Pb égales à 882 µg/kg et 48 µg/kg et leur mixture respectivement par voie orale pendant 6 mois. Une mesure du poids corporel, de comportement, de stress oxydatif et des marqueurs biochimiques ont été réalisées à la fin de la période d'étude. Les résultats obtenus montrent clairement l'effet toxique de ces métaux, où on a observé une diminution du poids corporel, un désordre comportemental présent sous forme d'une hypoactivité chez toutes les souris traitées. Nos résultats suggèrent aussi la capacité de Cd et de Pb à perturber l'homéostasie du statut redox cellulaire dans le cerveau, le foie et les reins ; caractérisé par une augmentation du taux de la peroxydation lipidiques, un épuisement des réserves du GSH dans tous les organes étudiés et une perturbation de l'activité des enzymes antioxydants. La perturbation des marqueurs biochimiques hépatiques (TGO, TGP) et rénaux (urée et la créatinine) a indiqué la perte de l'intégrité cellulaire et fonctionnelle de ces organes après l'exposition des animaux au Pb et au Cd ainsi qu'à leur mixture.

Mots clé: Stress oxydatif, Plomb, Cadmium, foie, reins, cerveau, effet toxique, comportement.

Summary

Humanity is experiencing a great industrial development which improves the way of life. But unfortunately this is associated with pollution which exposes public health to a range of chronic diseases by threatening the general population. Cadmium (Cd) and lead (Pb) are highly toxic heavy metals accumulating in biological tissues, particularly in fish that constitute a primary biological food matrix. The objective of this work is to evaluate the nervous, renal and hepatotoxic effects of exposure to micro doses of these metals (Cd and Pb and their mixture) which are recorded in fish grown in the dam of Beni Haroun. This study was carried out by applying a model of mice exposed to lead and cadmium levels of 882 µg / kg and 48 µg / kg and their mixture respectively, orally administered for 6 month. Body weight, oxidative stress, behaviour and biochemical markers are evaluated. The results obtained clearly show the toxic effect of these metals where there is a reduction in body weight, a behavioural disorder that appears as hypo-activity in all the treated mice. The results of this work also suggested the capacity Cd and Pb to disrupt homeostasis of redox status in the brain, liver and kidneys in which we reported an increase in lipid peroxidation, a depletion of GSH reserves and a disruption of the activity of antioxidant enzymes in all the organs studied in the treated groups. Finally, hepatic (TGO, TGP) and renal (urea, creatinine) biochemical markers, indicated loss of cellular and functional integrity of these organs after exposure of animals to lead and Cadmium and to their mixture.

Key words: Oxidative stress, Lead, Cadmium, brain, liver, kidneys, toxic effect, behaviour.

الملخص

إن المجتمع البشري يشهد تطورا صناعيا كبيرا حسن من نمط الحياة لكنه مع الأسف تسبب في حدوث التلوث الذي يمكن أن يعرض الصحة إلى مجموعة متنوعة من الأمراض المزمنة مهددا بذلك الإنسان.

يعتبر الكاديوم و الرصاص من المعادن الثقيلة السامة جدا حيث يتراكمان في الأنسجة البيولوجية خاصة منها الأسماك التي تمثل مادة غذائية غنية من الدرجة الأولى. إن الهدف من هذا العمل هو تقدير التأثير السام لهذه المعادن على الدماغ والكبد و الكلى بعد التعرض إلى جرعات ضئيلة منها سجلت في الأسماك الموجودة في سد بني هارون حيث أجريت هذه الدراسة على الفئران و ذلك بمعالجتها بجرعات من الرصاص و الكاديوم تساوي 288 ميكروغرام / كغ و 48 ميكروغرام / كغ على التوالي و مزيجهما وذلك عن طريق الفم لمدة 6 أشهر. ثم تم قياس كل من وزن الجسم, الإجهاد التأكسدي, السلوك و المؤشرات البيوكيميائية في الدم. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها بشكل واضح التسمم الناتج عن هذه المعادن و الذي تمثل في انخفاض في وزن الجسم و حدوث اضطراب في السلوك تمثل في انخفاض في النشاط لدى جميع الفئران المعالجة إضافة إلى ذلك فقد أظهرت هذه الدراسة كذلك قدرة الرصاص و الكاديوم على إحداث اضطراب في التوازن الخلوي التأكسدي في الدماغ و الكبد و الكلى تمثل في زيادة في معدل تأكسد الدهون و استنزاف الجلوتاثيون في جميع الأعضاء المدروسة عند جميع المجموعات المعالجة مع حدوث اضطراب في نشاط الأنزيمات المضادة للأكسدة كما بين الخلل المسجل في نتائج المؤشرات البيوكيميائية للكبد (نواقل الأحماض الامينية) و الكلى (اليوريا و الكرياتين) تضررا في وظيفة الكبد و الكلى بعد تعرض حيوانات التجارب للرصاص و الكاديوم و مزيجهما.

الكلمات المفتاحية: الإجهاد التأكسدي, الرصاص, الكاديوم, الكبد, الكلى, الدماغ, التأثير السام, السلوك.