

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche
scientifique

Université de Jijel
Faculté des sciences
Département de Biochimie

Bc.09/05

Mémoire

01/01

En vue de l'obtention de diplôme d'études supérieures (D.E.S)

Option : Biochimie

Thème

**Contribution à l'étude de l'effet
de l'intoxication subchronique
par le cadmium
sur quelques paramètres
biochimiques liés à la fonction
hépatique et rénale chez les rats
-wistar-**

Membre de jury :

Président: Krika Abderrezek

Examineur: Ouanas Ilhem

Promoteur: Ghorab Ismahene

Réalisé par :

Chaalal Fatma Zohra

. Gueham Amel

. Halim Massaouda

Promotion 2005

REMERCIEMENTS

*Nous remercions dieu qui nous donné du courage et de la
volonté d'avoir réussit dans nos études.*

*Nous tenons à remercier toute personne qui à contribué de loin
ou du près à la réalisation de ce mémoire, plus
particulièrement : Notre encadreur M^{lle} GHORAB ISMAHENE
qui nous à proposé ce sujet de recherche, et qui nous a encadrée
et soutenue par ses conseils, sa compréhension, sa gentillesse, et
ses encouragements.*

*Nous remercions également l'équipe du laboratoire de biologie
pour leur aide et leur soutien.*

*Nous remercions les membres de jury de bien vouloir examiner
et critiquer le contenu de notre mémoire.*

*Enfin notre respect à tous les enseignants de la faculté des
sciences de l'université de Jijel.*

F. ZOHR'A, J'AMEL ET MASSAOUIDA

Liste des tableaux

Tableau I. Variations du poids corporel (g) des rats témoins et traités pendant six semaines du traitement dans les 03 lots.....	32.
Tableau II. Variations du poids (g) des organes (foie et reins) des rats témoins et traités.....	34.
Tableau III. Variation de l'activité de P.AI (UI/l) chez les témoins et les traités.....	36.
Tableau IV. Variations de l'activité de TGO (UI/l) chez les témoins et les traités.....	37.
Tableau V. Variations de l'activité de TGP (UI/l) chez les témoins et les traités.....	39.
Tableau VI. Variations de la concentration de l'urée (mg/l) chez les témoins et les traités.....	40.
Tableau VII. Variations de la concentration de la créatinine (mg/l) chez les témoins et les traités.....	41.

Liste des figures

Figure 01. Prélèvement du sang à partir de sinus rétro-orbital de l'œil.....	21.
Figure 02. Dissection des animaux et prélèvement des organes.....	22.
Figure 03. Variations du poids corporel (g) des rats témoins et traités pendant 06 semaines du traitement	33.
Figure 04. Variations du poids (g) de foie chez les témoins et les traités.....	35.
Figure 05. Variations du poids (g) des reins chez les témoins et les traités.....	35.
Figure 06. Variations de l'activité de la phosphatase alcaline (UI/l) chez les témoins et les traités.....	37.
Figure 07. Variations de l'activité de TGO (UI/l) chez les témoins et les traités.....	38.
Figure 08. Variations de l'activité de TGP (UI/l) chez les témoins et les traités.....	39.
Figure 09. Variations de la concentration de l'urée (mg /l) chez les témoins et les traités.....	40.
Figure 10. Variations de la concentration de la créatinine (mg/l) chez les témoins et les traités.....	41.

Liste des schémas

Schéma 01. Formation de TGO et TGP par la réaction de transamination.

Schéma 02. Biosynthèse de l'urée.

Schéma 03. Voies de synthèse de la créatine et de la créatinine.

Liste des abréviations

L. lot.

LT. Lot témoin.

L1. lot 1.

L2. lot 2.

ppm. partie par million $\mu\text{g} / \text{Kg}$.

pH. potentiel d'hydrogène.

SH. groupement sulfhydryle.

ATP. adénosine triphosphate.

mn. minute.

DO = A. densité optique = absorbance.

Sommaire

Introduction.....	01
-------------------	----

Partie théorique

Chapitre I. La toxicologie.

I-1.Toxicologie.....	02
I-1-1.La toxicité aiguë.....	02
I-1-2.La toxicité subaiguë.....	02
I-1-3.La toxicité chronique.....	02
I-2.La toxicité des métaux lourds.....	03
I-3.Le cadmium.....	03
I-3-1.Discription du cadmium.....	03
I-3-2.Domaines d'utilisation.....	04
I-3-3.Présence dans l'environnement.....	05
I-3-3-1.Dans les sols.....	05
I-3-3-2.Dans l'air.....	06
I-3-3-3.Dans l'alimentation.....	06
I-3-4.Métabolisme du cadmium.....	07
I-3-4-1.Absorption.....	07
I-3-4-2.Répartition dans l'organisme.....	08
I-3-4-3.Elimination.....	08
I-3-5.La toxicité du cadmium.....	09
I-3-5-1.La toxicité aiguë du cadmium.....	10
I-3-5-2.La toxicité chronique du cadmium.....	10
I-3-5-2-1.Les troubles rénaux.....	10
I-3-5-2-2.Les troubles digestifs.....	11
I-3-5-2-3.Les troubles respiratoires.....	11
I-3-5-2-4.Pouvoir cancérigène.....	11
I-3-5-2-5.Autres manifestations.....	12

CHAPITRE II. Les paramètres biochimiques du sang.

II-1. Les paramètres biochimiques du sang.....	14
II-1-1. Les enzymes sériques	14
II-1-1-1. La phosphatase alcaline.....	14
II-1-1-2. Les transaminases.....	15
II-1-1-2-1. Le sérum glutamopyruvate transférase STGO.....	15
II-1-1-2-2. Le sérum glutamooxaloacétate transférase STGP	15
II-1-2. Les constituants azotés non protéiques du sang.....	16
II-1-2-1. L'Urée.....	16
II-1-2-1-1. Biosynthèse de l'urée.....	17
II-1-2-2. La créatinine.....	18
II-1-2-2-1. Biosynthèse de la créatinine.....	19

Partie pratique

CHAPITRE I. Matériel et Méthodes.

I-1. Animaux.....	20
I-2. Protocole expérimental.....	20
I-2-1. Préparation du traitement.....	20
I-2-2. Observations systématiques pendant l'essai.....	21
I-2-3. Prélèvement du sang.....	21
I-2-4. Prélèvement des organes.....	22
I-2-5. Les dosages biochimiques.....	23
I-2-5-1. Dosage de la phosphatase alcaline.....	23
I-2-5-1-1. Méthode.....	23
I-2-5-1-2. Principe.....	23
I-2-5-1-3. Composition des réactifs.....	23
I-2-5-1-4. Préparation de réactif de travail.....	23

I-2-5-1-5.Mode opératoire.....	23
I-2-5-1-6.Calcul.....	24
I-2-5-2.Le dosage des transaminases.....	24
I-2-5-2-1.Dosage de TGO	24
I-2-5-2-1-1.Méthode	24
I-2-5-2-1-2.Principe.....	24
I-2-5-2-1-3.Composition des réactifs.....	25
I-2-5-2-1-4.Préparation de réactif de travail.....	25
I-2-5-2-1-5.Mode opératoire	25
I-2-5-2-1-6.Calcul.....	25
I-2-5-2-2.Dosage de TGP.....	25
I-2-5-2-2-1.Méthode.....	25
I-2-5-2-2-2.Principe.....	26
I-2-5-2-2-3.Composition des réactifs.....	26
I-2-5-2-2-4.Préparation de réactif de travail.....	26
I-2-5-2-2-5.Mode opératoire.....	27
I-2-5-2-2-6.Calcul.....	27
I-2-5-3.Dosage de l'urée.....	27
I-2-5-3-1.Méthode.....	27
I-2-5-3-2.Principe.....	27
I-2-5-3-3.Compositon des réactifs.....	27
I-2-5-3-4. Préparation de réactif travail.....	28
I-2-5-3-5.Mode opératoire.....	28
I-2-5-3-6.Calcul.....	28
I-2-5-4.Dosage de la créatinine.....	28
I-2-5-4-1.Méthode.....	28
I-2-5-4-2.Principe.....	29
I-2-5-4-3.Composition des réactifs.....	29
I-2-5-4-4.Préparation de réactif de travail.....	29

1-2-5-4-5.Mode opératoire.....	29
1-2-5-4-6.Calcul.....	29
1-3.Analyse statistique	30

Chapitre II. Résultats.

II-1.Résultats.....	31
II-1-1. Evolution pondérale des animaux.....	31
II-1-2. Poids des organes.....	34
II-1-3. Variations des paramètres biochimiques.....	36
II-1-3-1.Activité enzymatiques	36
II-1-3-1-1. La phosphatase alcaline P.Al.....	36
II-1-3-1-2. La TGO.....	37
II-1-3-1-3. La TGP.....	38
II-1-3-2.Variationsde la concentration de l'urée et de la créatinine	40
II-1-3-2-1. L'urée.....	40
II-1-3-2-2. La créatinine	41

Chapitre III. Discussion.

III- Discussion	43
Conclusion	46
Références bibliographiques.....	47

Introduction

L'homme est exposé à nombre de substances toxiques, naturelles ou artificielles ; dans certaines conditions peuvent être la cause d'effets néfastes sur la santé. (Frank, 1992).

L'évaluation du risque toxique lié aux produits chimiques, aux polluants de l'environnement et à d'autres substances représente un élément important dans l'amélioration des conditions de vie (Doull, 1986).

Par ailleurs les individus ont été toujours exposés aux métaux lourds dans l'environnement. Dans les régions où ces métaux sont abondants, la contamination de la nourriture et de l'eau potable a probablement conduit aux premières intoxications (Goodman et Gilman, 1998).

Le plomb (Pb), le mercure (Hg) et le cadmium (Cd), sont les métaux qui posent le plus de problèmes pour la santé humaine, aussi bien pour leur impact sur un grand nombre d'individus que par la gravité de leurs effets toxiques (Frank, 1992).

L'action du toxique sur l'organisme peut s'exprimer sous forme de maladies cliniques, de troubles fonctionnels ou de modifications biologiques (Lauwerys, 2000).

Dans ce contexte, le foie est une cible fréquente des toxiques, ces derniers dépriment la biotransformation en atteignant les systèmes enzymatiques, de plus les atteintes rénales sont la conséquence de l'altération des fonctions excrétrices et métaboliques du rein (Frank, 1992).

Dans la présente étude nous nous sommes intéressés aux perturbations des deux fonctions rénale et hépatique, dues à l'ingestion du cadmium dans l'eau de boisson chez les rats *wistar*, par l'évaluation de quelques paramètres biochimiques liés aux fonctions rénale et hépatique.



Partie théorique

Chapitre I

La toxicologie

I-1. Toxicologie

De façon simple et concise, la toxicologie est définie comme l'étude de la nature et du mécanisme de la toxicité des substances sur des organismes vivants ou sur d'autres systèmes biologiques. Cette définition inclut aussi la mesure de la sévérité et de la fréquence des effets en relation avec le degré d'exposition des organismes considérés (Frank, 1992).

La toxicité est la capacité inhérente à une substance de produire des effets délétères sur l'organisme (altération d'un ou de plusieurs organes ou fonctions) (Lauwerys, 1982). Il existe en général trois formes de toxicité, suivant la rapidité d'apparition, la sévérité et la durée des symptômes, et la rapidité d'absorption de la substance toxique (Lauwerys, 2000).

I-1-1. La toxicité aiguë

Elle résulte d'une exposition de courte durée et d'une absorption rapide du toxique « dose unique ou multiples doses sur une période ne dépassant pas 24 heures » (Lauwerys, 2000).

I-1-2. La toxicité subaiguë

Dans ce cas des expositions fréquentes ou répétées sur une période de plusieurs jours ou semaines sont nécessaires avant que des symptômes n'apparaissent (Lauwerys, 1982).

I-1-3. La toxicité chronique

Elle résulte d'une exposition répétée pendant une longue période de temps (en général pendant toute la durée de la vie de l'animal de laboratoire) des signes d'intoxication se manifestent :

- soit parce que le poison s'accumule dans l'organisme, c'est-à-dire qu'à chaque exposition, la quantité éliminée est inférieure à la quantité absorbée.

- soit parce que les effets engendrés par des expositions répétées s'additionnent sans que le toxique s'accumule dans l'organisme (Lauwerys, 2000).

I-2. La toxicité des métaux lourds

Les métaux sont une classe particulière de toxiques, ils sont présents à l'état stable dans l'environnement (Frank, 1992). Les métaux de l'environnement les plus importants à prendre en considération sur le plan toxicologique sont les métaux lourds (Goodman et Gilman, 1998). Ce sont des éléments métalliques naturels, métaux ou dans certains cas métalloïdes, caractérisés par une masse volumique élevée, supérieures à 5g/cm^3 , l'organisation mondiale de la santé désigne sous le nom de métaux lourds, l'ensemble des métaux présentant un caractère toxique pour la santé et l'environnement. Les métaux lourds sont présents dans tous les compartiments de l'environnement, mais en général en quantité très faible. Ils sont présents en « traces », ils sont aussi la trace du passé géologique et de l'activité de l'homme. Certains sont indispensables au déroulement des processus biologiques des végétaux et des animaux à des quantités infinitésimales, ils sont alors nommés « oligo-éléments ». Un grand nombre d'éléments appartient à ce groupe, mais dans le contexte de l'environnement figure en premier lieu les métaux suivants : Arsenic (As), Cadmium (Cd), Plomb (Pb), Cobalt (Co), Chrome (Cr), Nickel (Ni). (Boutana *et al.*, 2004).

I-3. Le cadmium

I-3-1. Description du cadmium

Le cadmium est un métal lourd, blanc argent, légèrement bleuté. Il est très malléable et ductile (Frank, 1992). Sa densité de 8,65, dont le point de fusion s'élève à 321°C (Lauwerys, 2000), le nombre atomique de cadmium est de 48, la masse molaire est de $112,4\text{g.Mol}^{-1}$. C'est un métal mou, peu oxydable à l'air, qui se volatilise facilement, bien avant son point d'ébullition (765°C) (Lauwerys,

1982). Son abondance dans la lithosphère est estimée à 0,15 g/t, c'est donc un métal relativement rare. Il n'existe pas de minerais de cadmium en quantités métallurgiquement exploitables ; le plus connu est la greenokite (sulfure de cadmium à 77,8 % de métal) ; il révèle sa présence dans les minerais de zinc par des taches jaunâtres (Cessac, 1996). Le cadmium est principalement extrait des minerais de sulfure de zinc (blendes), mais comme ceux-ci sont associés généralement au plomb et souvent au cuivre, le cadmium provient également de quelques usines métallurgiques où la production du plomb et quelquefois du cuivre l'emporte sur celle du zinc (Baud, 1962). C'est en Allemagne, vers 1817, que le cadmium fut isolé par quatre chimistes, Strohmeyer, Hermann, Karsten et Meissner, opérant d'ailleurs séparément. La production industrielle du cadmium commença en Haute-Silésie, en 1852, mais elle ne prit réellement son essor dans les autres pays producteurs de zinc, et notamment aux États-Unis, qu'à partir de 1907, jusqu'aux années 1920. (Commerzan, 1976). La production Européenne annuelle est voisine de 15 000 tonnes (Lauwerys, 1982). Le métal provenait uniquement de la réduction, suivie de distillations, des poussières zincifères et cadmifères (les cadmies) recueillies dans les allonges des creusets horizontaux des fours à zinc (Baud, 1962).

I-3-2. Domaines d'utilisation

Le cadmium est utilisé pour faire des revêtements anticorrosion, par dépôt électrolytique ou par tompage des batteries d'accumulateurs et des piles électriques (Bismuth, 2000). Il entre dans la composition d'alliage avec l'acier pour la fabrication de roulements à billes (Testud, 1992), de fils et de bâtons de soudure (Bismuth, 2000). Dans l'industrie atomique pour capter l'excès de neutrons (Lauwerys, 1982). Comme contaminant dans les engrais phosphatés, et dans les boues d'incinérateurs parfois utilisées comme engrais (Lauwerys, 2000). Les principaux composés du cadmium utilisés dans l'industrie sont l'oxyde

(CdO), le sulfure (CdS), le chlorure (CdCl₂), le sulfate (CdSO₄), (Lauwerys, 2000), se sont employés comme pigments (peintures, encre et métaux) et comme stabilisants de matières plastiques (Testud, 1992). Les applications et la production vont continuer à augmenter. (Goodman et Gilman, 1998).

I-3-3. Présence dans l'environnement

Dans la nature, le cadmium se trouve principalement associé aux minerais de Plomb et de Zinc, et se trouve relargué près des mines et des fonderies de ces métaux. Les concentrations atmosphériques, de l'ordre de quelques nanogrammes par m³ dans certains ateliers. Les niveaux dans l'eau sont très faibles (environ 1 µg /l) sauf dans des zones contaminées. La plupart des aliments contiennent des traces de cadmium, les grains et les céréales étant les principaux vecteurs (Frank, 1992).

I-3-3-1. Dans les sols

Il présente une large distribution dans le sol avec une grande mobilité. La concentration moyenne de cadmium de la lithosphère est inférieure à 1ppm. Les teneurs moyennes dans les sols se situent entre 0,06 et 1,1ppm (El hadef, 2002) Elle peut atteindre 800ppm dans les exploitations minières (Kerboua, 2003). Le sol peut être contaminé aussi par les rejets d'ateliers de galvanoplastie, l'emploi de phosphates impurs comme engrais, de matériaux plastiques stabilisés au stéarate de cadmium, ainsi que de différents accessoires automobiles (pneus, pare-chocs... etc.) (Bismuth, 2000). Une enquête détaillée à été effectuée aux USA sur près de 250 échantillons de sols a révélé une moyenne de 0,41ppm dans 70 sols de zones résidentielles, 0,57ppm dans 91 échantillons de zones agricoles et 0,66ppm dans 86 échantillons de zones industrielles.

I-3-3-2. Dans l'air

La présence dans l'air est principalement limitée aux zones industrielles, à proximité des usines en manipulant, mais à Paris et dans les grandes villes françaises ou américaines, il n'existe que quelques nanogrammes ou plus par mètre cube d'air (Bismut, 2000). Comme le plomb, le cadmium est présent dans l'alimentation, dans la fumée de cigarettes, dans l'air atmosphérique (Lauwerys, 1982). La concentration atmosphérique moyenne dans les villes américaines oscille entre 0,001 à 0,083 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, mais autour des usines produisant du cadmium les taux varient de 0,1 à 0,5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Lauwerys, 2000). Malgré que l'apport aérien est considéré comme négligeable, il faut signaler qu'une cigarette contient 1 à 2 μg de cadmium (Goodman et Gilman, 1998). Après l'analyse de 06 marques de cigarette, une étude a montré que les taux de cadmium varient entre 19 et 27 μg / 20 cigarettes (Lauwerys, 1982). Il n'est dès lors pas étonnant que les fumeurs accumulent plus de cadmium dans les reins, le foie, et les poumons que les non fumeurs. Par ailleurs, la consommation de cigarettes semble être la source principale d'exposition de la population générale au cadmium en Suède (Lauwerys, 2000).

I-3-3-3. Dans l'alimentation

Avec l'alimentation, l'adulte ingère entre 4 et 80 μg de cadmium par jour selon l'origine des aliments (Lauwerys, 2000). (Chang *et al.*, 1980) ont montré qu'à partir des sols souillés expérimentalement avec de l'oxyde de cadmium, les céréales cultivées ont été contaminées, avec un rendement plus grand dans le cas du blé et du maïs. (Nogawa *et al.*, 1987) ont montré que des légumes comme la laitue et les radis ont été également capables d'accumuler le cadmium. (Terahiko *et al.*, 1993) ont confirmé la contamination facile du blé à partir de différentes dilutions de boues résiduelles contenant seulement 10 ppm de cadmium. Il faut signaler que le foie des animaux domestiques, contient des quantités de cadmium

atteindre une dizaine de ppm dans le cas d'animaux d'abattage tardif comme le cheval par exemple. En ce qui concerne les aliments en provenance d'animaux d'origine aquatique, ils semblent cependant que les moules, les huîtres, et coquilles Saint-Jacques renferment souvent des teneurs en cadmium comprises entre 0,5 et 1,5ppm, les crabes sont les organismes marins qui paraissent renfermer le plus de cadmium.

1-3-4. Métabolisme du cadmium

1-3-4-1. Absorption

Le cadmium peut être absorbé par les voies respiratoires, et digestives, le taux d'absorption du cadmium ingéré ($\pm 5\%$ chez l'adulte masculin) est cependant plus faible que celui du cadmium déposé dans les voies respiratoires ($\pm 25\%$ chez les fumées d'oxyde de cadmium). En milieu professionnel, l'inhalation constitue sans doute la voie principale d'absorption du cadmium, cette dernière est d'environ 50% de la dose inhalée, bien que l'ingestion puisse jouer un rôle non négligeable quand les travailleurs ne respectent pas les règles d'hygiène, manger et fumer avec les mains contaminées (Lauwerys, 1982). Divers facteurs (âge, sexe, déficience en fer, en calcium) peuvent influencer l'absorption intestinale du cadmium, l'absorption gastro-intestinale semble ainsi plus importante chez la femme que chez l'homme (Lauwerys, 2000). L'alimentation normale réalise un apport d'environ 15 à 70 μg /jour, la teneur dans l'eau de boisson doit être $\leq 5\mu\text{g}/\text{l}$ (Testud, 1992). L'absorption des vapeurs et des fumées de cadmium est principalement respiratoire, celle des poussières l'est partiellement (Bismuth, 2000). Le passage systémique est compris entre 10 et 50% selon la granulométrie des aérosols (seul les particules de diamètre inférieure à 5 μm pénètrent jusqu'aux alvéoles). L'absorption percutanée est toujours très faible, l'absorption digestive est comprise entre 1 et 10%, c'est la principale voie d'entrée du cadmium environnemental, elle joue également un rôle notable (Bismuth, 2000).

I-3-4-2. Répartition dans l'organisme

Le cadmium est un toxique très cumulatif, sa demi vie biologique dépasse 15ans (Testud, 1992), il s'accumule surtout dans les poumons, les reins, le foie, le pancréas, la glande thyroïde, les testicules et les glandes salivaires. La pénétration intracellulaire des ions de cadmium s'effectuerait dans les canaux calciques, Le foie et le rein sont les principaux sites de stockage (environ 50% de charge corporelle) (Lauwerys, 2000). La charge totale en cadmium de l'organisme adulte non professionnellement exposés au cadmium est de 10 à 50µg. La concentration du cadmium dans le cortex rénal a augmenté d'environ 50 fois depuis le début du siècle, suite aux usages dispersifs du cadmium qui ont entraîné une pollution progressive de l'environnement dans les pays industrialisés (Lauwerys, 1982). Après absorption, le cadmium est transporté dans le sang, lié principalement aux cellules sanguines et à l'albumine. Le cadmium est d'abord distribué au foie puis redistribué lentement vers les reins sous forme cadmium métallothionéine. Après distribution, approximativement 50% de la charge totale corporelle est retrouvés dans le foie et les reins, la métallothionéine est une protéine de faible poids moléculaire riche en groupement SH, et possédant une grande affinité pour les métaux tels que le cadmium et le zinc (Goodman et Gilman, 1998). Dans le sang il est en majeure partie (90-95%) intra-érythrocytaire, fixé à l'hémoglobine, et à la métallothionéine (Lauwerys, 1982) les lymphocytes possèdent aussi la propriété de séquestrer de grandes quantités de cadmium sous forme de complexe avec la métallothionéine (Lauwerys, 2000). Dans les tissus, il se fixe sélectivement sur une protéine de faible poids moléculaire ce qui explique la persistance de cadmium dans l'organisme (Testud, 1992).

I-3-4-3. Elimination

L'élimination du cadmium est très lente, le principal émonctoire est le rein, la demi vie d'élimination est voisine de 20ans, elle est diminuée en cas d'atteinte

tubulaire rénale (Bismuth, 2000). En conséquence avec l'exposition environnementale continue, la concentration du métal dans les tissus augmente toute au long de la vie, la charge corporelle de cadmium chez un adulte de 50ans est d'environ 30mg. En général l'élimination fécale est plus importante que l'élimination urinaire, cette dernière ne devient significative qu'après survenue d'une toxicité rénale importante (Goodman et Gilman, 1998). Le cadmium absorbé s'élimine en partie par les voies urinaires, et intestinales et par les phanères (Lauwerys, 2000). Le cadmium urinaire est principalement fixé à la métallothionéine (Lauwerys, 1982) quant à celui excrété par les voie biliaire et éventuellement par le pancréas est en majeure partie réabsorbé par le tube digestif, l'excrétion par voie biliaire est cependant faible. Dans la bile, le cadmium est lié à deux groupes de protéines (poids moléculaire élevé et faible) contrairement au mercure qui lui est uniquement fixé aux protéines de poids moléculaire élevé (Testud, 1992). Chez la souris il existe une excellente corrélation entre la concentration en cadmium des poiles et la charge corporelle en métal, il serait donc théoriquement possible de surveiller les travailleurs exposés au cadmium en dosant le métal dans les cheveux. Cependant en pratique, la précipitation externe du cadmium sur les cheveux rend cette analyse d'un intérêt très limité en milieu professionnel, les dosages sanguins et urinaires sont plus utiles (Lauwerys, 2000). Donc l'excrétion du cadmium s'effectue essentiellement par voie urinaire, en absence de lésions rénales, l'excrétion urinaire du cadmium est proportionnelle à la charge corporelle. La survenue de lésions rénales induite par le cadmium s'accompagne d'une excrétion urinaire accrue de cadmium (Lauwerys, 1982).

I-3-5. La toxicité du cadmium

Le cadmium est ses sels sont à la fois des irritants et des toxiques systémiques (Lauwerys, 1982). L'action irritante sur la muqueuse nasale, l'arbre respiratoire, et le tube digestif est responsable des accidents aigus (Lauwerys, 2000). L'action

générale se manifeste surtout sur la fonction rénale et les tissus pulmonaires et osseux (Lauwerys, 1982) le mécanisme d'action biochimique est encore mal cerné : interférence avec le métabolisme du cuivre, du cobalt et du zinc (Testud, 1992).

1-3-5-1. La toxicité aiguë du cadmium

La toxicité aiguë est surtout la conséquence d'effets locaux : après ingestion d'aliments ou des boissons ayant été en contact avec des métaux cadmiés (Frank, 1992), et également dans l'industrie, chez les travailleurs qui prenaient un repas après avoir manipulé des bâtons de soudure contenant du cadmium (Lauwerys, 2000). Les manifestations cliniques sont des nausées, des vomissements et des douleurs abdominales (Frank, 1992). Une prise de 10mg est suffisante pour produire des effets toxiques. Une intoxication mortelle est possible dès 350mg (Bismuth, 2000). Après inhalation, les lésions observées sont des oedèmes pulmonaires et des pneumopathies (Frank, 1992). A cours terme le cadmium est plus toxique quand il est inhalé.

1-3-5-2. La toxicité chronique du cadmium

Les effets toxiques de l'exposition chronique au cadmium diffèrent quelque peu avec la voie d'exposition. Les reins sont atteints après exposition pulmonaire, ou gastro-intestinale, les effets pulmonaires marqués sont observés seulement après inhalation (Goodman et Gilman, 1998).

1-3-5-2-1. Les troubles rénaux

Le cadmium est prélevé par le foie où il peut se combiner avec le glutathion et être excrété dans la bile, de manière plus importante, le cadmium se lie à la métallothionéine, forme sous laquelle il est stocké. Le cadmium lié à la métallothionéine passe dans le plasma et est fixé par les reins puis libéré dans les

lysosomes rénaux. Une concentration suffisante ($200\mu\text{g/g}$) lèse les cellules rénales. L'atteinte rénale est précoce, survenant pour des cadmiuries $\geq 10-15\mu\text{g/g}$ de créatinine, voire même dès $5\mu\text{g/g}$ de créatinine pour certains auteurs, il s'agit d'une tubulopathie proximale se traduisant par une protéinurie généralement $\leq 2\text{g/heure}$ s, phosphaturie, et calciurie peuvent également être notées. L'élévation de la créatinine plasmatique traduit le passage au stade de néphropathie tubulointersitielle, avec possibilité d'évolution vers l'insuffisance rénale chronique sévère après plusieurs années d'exposition (Bismuth, 2000).

I-3-5-2-2. Les troubles digestifs

L'ingestion de dérivées inorganiques du cadmium est rapidement suivie de troubles digestifs intenses, douleurs abdominales, vomissements souvent sanglants et diarrhées (Testud, 1992).

I-3-5-2-3. Les troubles respiratoires

L'inhalation prolongée de vapeurs, de fumées concentrées et des poussières d'oxyde de cadmium, provoque une atteinte ORL (rhinite atrophique, hyposmie) et l'installation progressive d'une bronchite chronique « chimique » (Testud, 1992). La pathogénie de l'emphysème et de la fibrose pulmonaire induites par le cadmium n'est pas bien comprise (Goodman et Gilman, 1998). La fonction respiratoire peut continuer à s'altérer même après cessation de toute exposition, dans les conditions habituelles d'exposition au cadmium, l'altération de la fonction pulmonaire ne survient qu'après environ 20ans d'exposition (Lauwerys, 2000).

I-3-5-2-4. Pouvoir cancérogène

L'administration parentérale de cadmium peut induire chez l'animal un cancer sous-cutané et testiculaire (Lauwerys, 1982). Administré par voie orale, le cadmium ne semble pas induire de cancer chez le rat, mais dans la même espèce :

l'inhalation prolongée (18 mois) et continue d'un aérosol de chlorure de cadmium, a provoqué l'apparition de cancer pulmonaire dont l'incidence est proportionnelle à la dose (Lauwerys, 2000). En 1967, après l'examen de la cause de décès de 292 sujets masculins qui avaient été occupés pendant au moins 2ans dans une fonderie de cadmium , ils constatèrent que la mortalité par cancer pulmonaire et prostatique était plus élevée, il faut souligner que le nombre de travailleurs étudiés était relativement faible, et que les habitudes tabagiques des sujets n'ont pas été prises en considération (Lauwerys, 1982). Cependant, les résultats des études épidémiologiques destinées à évaluer le risque de cancer résultant de l'exposition professionnelle au cadmium ne permettent pas encore de tirer des conclusions définitives (Lauwerys, 2000).

I-3-5-2-5. Autres manifestations

La dent jaune cadmique est une coloration de l'émail des dents qui débute au collet et s'étend vers le bord libre (Bismuth, 2000). Sans atteinte de la gencive (Testud, 1992). Elle constitue un signe clinique très caractéristique devant attirer l'attention sur une imprégnation par le cadmium (Lauwerys, 2000).

L'atteinte osseuse est très rare en milieu professionnel, elle est l'apanage d'exposition massive et n'a en effet été rapportée qu'a la suite d'intoxications hydriques: maladie d'Itaï-Itaï au Japon , provoquée par la pollution d'eau en aval d'une mine de cadmium, elle se traduit par une ostéomalacie avec violentes douleurs du bassin et des membres inférieures, déminéralisation diffuse et fissures symétriques(Goodman et Gilman, 1998). Les victimes japonaises était pour la plupart des femmes multipares ménopausées (Testud, 1992).

La nécrose testiculaire caractéristique, courante des expositions à court terme chez l'animal, est rare dans les expositions à long terme à faibles doses, chez l'homme la nécrose testiculaire induite par le cadmium n'est pas été observée (Goodman et Gilman, 1998).

La grossesse majore la rétention maternelle rénale du cadmium, le passage transplacentaire du cadmium et son éventuel retentissement sur le fœtus sont mal connus, il pourrait être en partie retenu par le placenta par l'intermédiaires d'une synthèse de métallothionéine, le cadmium est tératogène chez l'animal à l'origine d'anomalies squelettiques, dans l'espèce humaine, il semble responsable d'hypertrophie fœtale, et de retard du développement dentaire (Testud, 1992).

Chapitre II
Les paramètres
Biochimiques
du sang

II-1. Les paramètres biochimiques du sang

Le sérum sanguin contient toute une série de protéines, les protéines de sérum comprennent également des enzymes importantes qui proviennent de certains tissus (phosphatases, transaminases,....) (Polonovski, 1971).

II-1-1. Les enzymes sériques

II-1-1-1. La phosphatase alcaline (P.AI)

Ils ont groupés sous le nom de phosphatases un certain nombre d'hydrolases qui libèrent de l'acide phosphorique à partir de divers substrats phosphorylés. Dans la plupart des cas, le terme de phosphatase est utilisé pour désigner les phosphomonoestérases à large spécificité, qui hydrolysent les mono-esters de l'acide phosphorique et de polyols (glycérophosphate), ou de phénols (phénolphosphate) (Polonovski, 1971). Donc la phosphatase alcaline est une enzyme libérant de l'acide phosphorique, présente dans de nombreux tissus, ainsi que dans le sang. C'est une enzyme connue par sa structure protéique qui hydrolyse les esters de l'acide phosphorique, c'est-à-dire qu'elle attache un ester combinant d'un acide avec un alcool, pour en détacher l'acide phosphorique lequel est utilisé d'ailleurs ou éliminé dans les urines.

Il existe deux types de phosphatases en fonction de leur pH optimal d'action, les phosphatases alcalines qui agissent en milieu alcalin, qui sont essentiellement présentes dans le foie et les tissus osseux, et les phosphatases acides qui agissent en milieu acide.

Le taux sérique de la phosphatase alcaline mesuré dans un prélèvement sanguin, permet d'évaluer les fonctions biologiques du foie. Ce taux est très élevé en cas de *cholestase* (manifestations liées à la diminution ou l'arrêt de la sécrétion biliaire, et en cas d'autres affections en particulier osseuses, le taux de phosphatase acide quant à lui augmente en cas de cancer de la prostate) (Redouane Salah, 2001).

II-1-1-2. Les transaminases

Ce sont des enzymes qui accélèrent le transfert d'un groupement amine d'un acide aminé sur un acide cétonique.

Deux transaminases présentent un intérêt clinique : TGO et TGP.

II-1-1-2-1. Le Sérum glutamopyruvate transférase (STGP)

Elle est présente dans le foie, les reins, et en quantité plus faible dans les muscles striés et les globules rouges. Son taux normalement est inférieur à 15 unités internationales par litre, et il augmente en cas de destruction des cellules du foie, ainsi lors d'une hépatite virale avant l'apparition de l'ictère parfois, de façon très importante ce taux augmente également dans les moindres proportions, au cours d'autres maladies du foie (cancer, hépatite toxique...) (Redouane Salah, 2001).

II-1-1-2-2. Le Sérum glutamooxaloacétate transférase (STGO)

Il se trouve principalement dans les cellules des muscles striés du foie, et dans les globules rouges, son taux est normalement inférieur à 20 unités internationales par litre. Il augmente en cas de destruction des cellules, en particulier en cas d'infarctus du myocarde (Redouane Salah, 2001).

Ces dénominations sont expliquées par le schéma suivant :

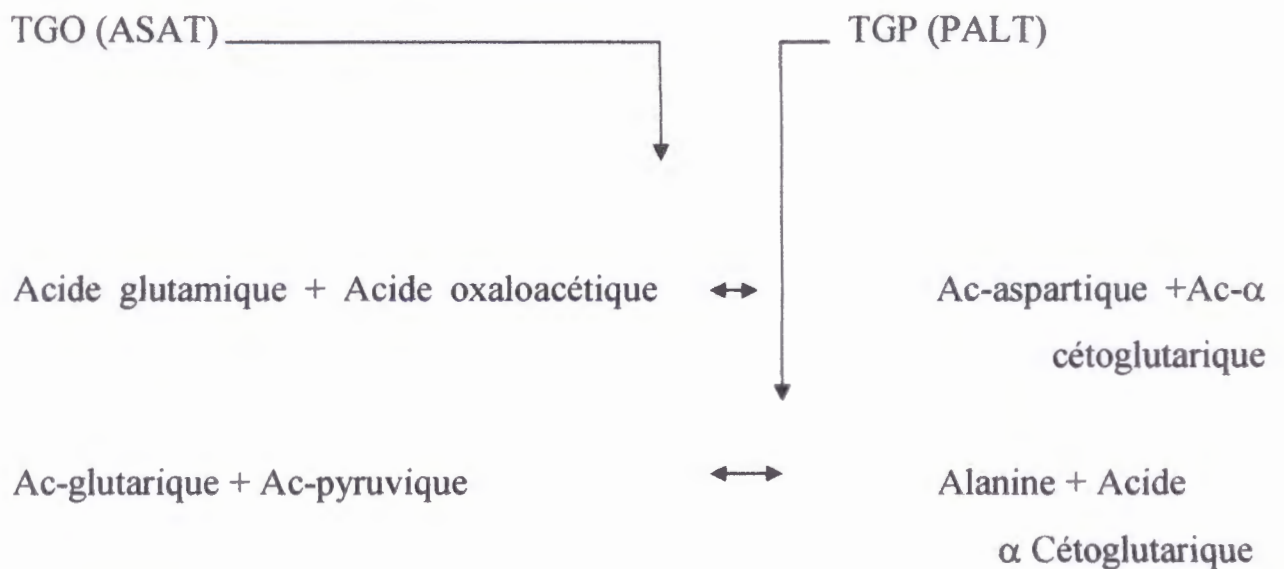


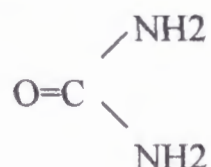
Schéma 01. Formation de TGO et TGP par la réaction de transamination (Polonovski, 1973)

II-1-2. Les constituants azotés non protéiques du sang

Les substances azotés non protéiques du sang sont constituées essentiellement par les produits de la dégradation des matières protéiques, tels que l'urée et la créatinine (Polonovski, 1971).

II-1-2-1. L'urée

L'urée est une petite molécule très diffusible, répartie de façon à peu près égale dans tous les tissus et les liquides biologiques, elle est représentée par cette formule (Charrel, 1991) :



C'est le produit ultime du catabolisme protidique et notamment de ses groupements $-\text{NH}_2$. Elle est essentiellement synthétisée au niveau hépatique et son

taux de production dépend du catabolisme protidique : apport azotés alimentaire et catabolisme endogène.

Son élimination est essentiellement rénale, et résulte d'une filtration glomérulaire presque totale, suivie dans des conditions normales de filtration, d'une réabsorption portant 40% de la quantité filtrée.

Son taux sanguin va donc dépendre de la production, de l'élimination rénale, et de l'état d'hydratation (Michel, 1991). A l'état normal, il y a environ 0,30g / l d'urée dans le sang, et sensiblement la même quantité dans le plasma ou le sérum. L'urée renferme près de 50% d'azote, il y a donc dans le sang à peu près 0,14g d'azote uréique. L'élévation de l'urée sanguine est communément décrite en clinique sous le nom « d'azotémie » ou « d'urémie » (Polonovski, 1971).

II-1-2-1-1. Biosynthèse de l'urée

L'urée est produite dans le foie (uréogenèse) à partir de l'ammoniac libéré par les acides aminés après le parcours d'un cycle comportant l'arginine, l'ornitine et la citrulline. L'urée est éliminée à 90% dans une urine après filtration glomérulaire et réabsorption tubulaire partielle (Redouane Salah, 2001)

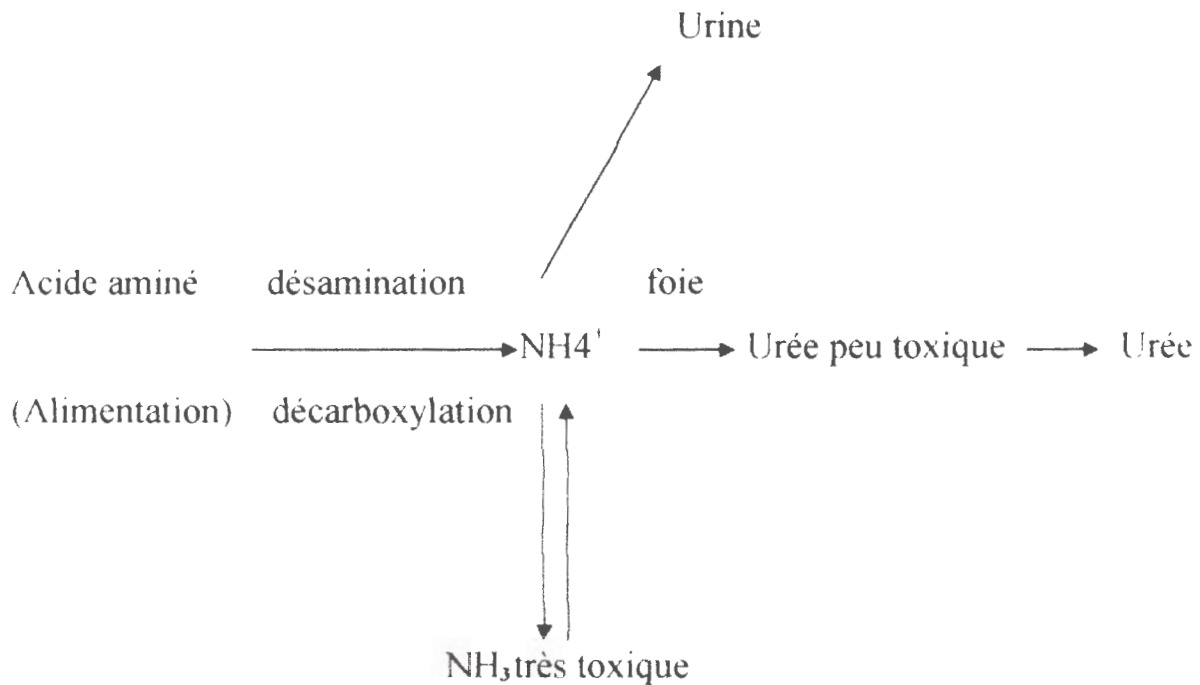


Schéma 02. Biosynthèse de l'urée (Polonovski, 1973)

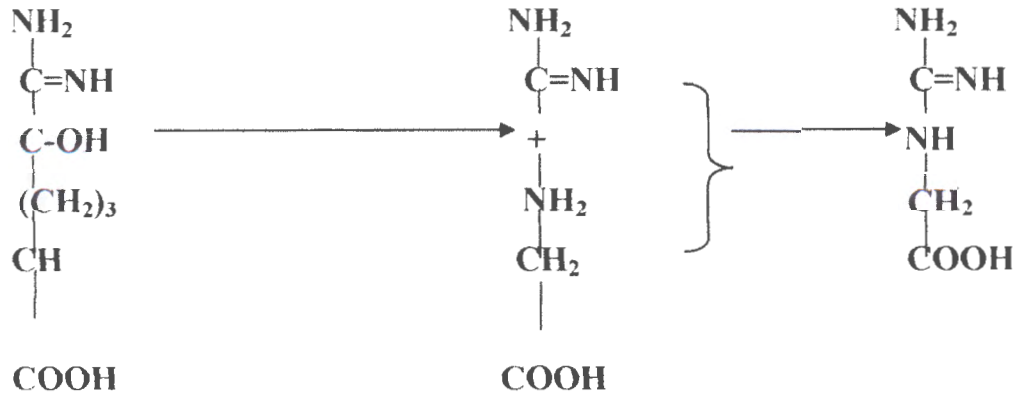
II-1-2-2. La créatinine

C'est un produit du métabolisme musculaire qui dérive de la créatine. En effet la créatine est synthétisée au niveau du foie par méthylation de la glycosamine, produite dans le rein par le transfert du groupement guanidiques de l'arginine sur la glycine, libérée dans la circulation générale la créatine, captée par les cellules musculaires est transformée par une Kinase en créatine phosphate (réserve d'énergie). Lors de la synthèse de l'ATP, la perte simultanée d'une molécule d'eau entraîne la cyclisation de la créatine en créatinine, réaction qui est chez l'homme irréversible.

Comme l'urée la créatinine est un déchet éliminé en grande partie par le rein. Son taux plasmatique va dépendre à la fois de la production (masse musculaire), et de la capacité d'élimination rénale, par contre sa production est pratiquement

indépendante de l'alimentation et de l'état d'hydratation (Bousbia *et al.*, 2001).

II-1-2-2-1. Biosynthèse de la créatinine



Arginine

Glycine

Glycocyamine

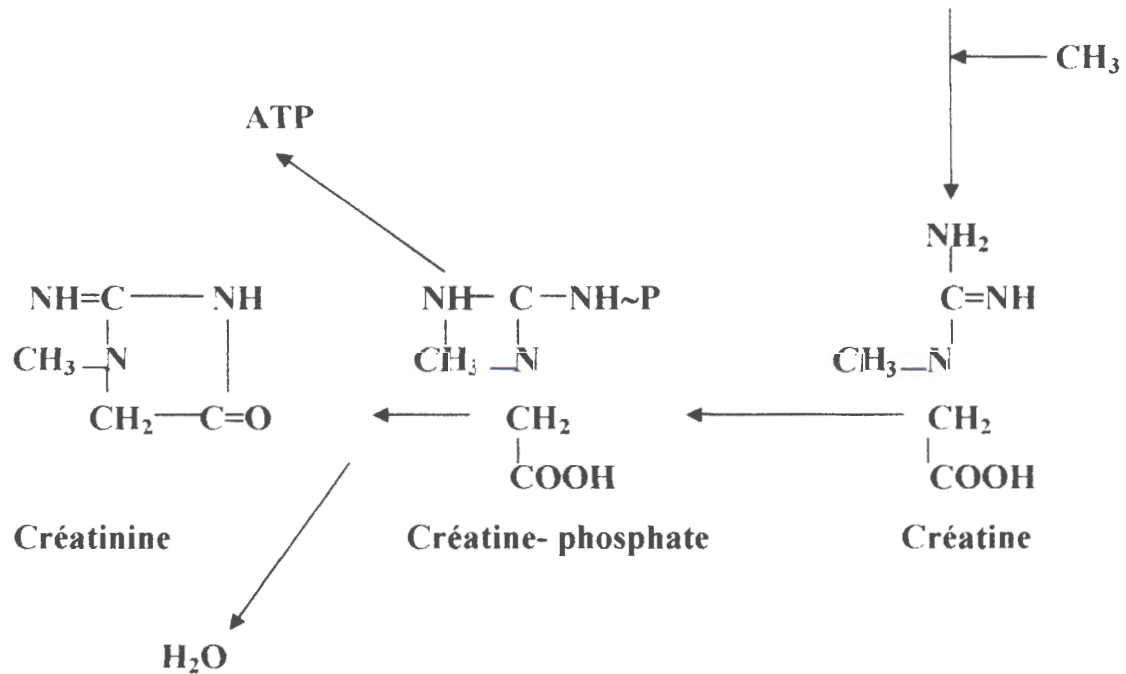


Schéma 03. Voies de synthèse de la créatine et de la créatinine (Charrel, 1991).



Partie pratique

Chapitre I

Matériel et méthodes

I-1. Animaux

Nous avons utilisé dans notre étude neuf (9) rats femelles de souche *wistar* répartis en trois lots (L), de poids corporel compris entre 170 et 236 g. Les rats ont été mis dans une animalerie soumise à une température ambiante, et à un photopériodisme de 12heures obscurité, et 12heures lumière.

I-2. Protocole expérimental

Les neufs rats ont été répartis en trois cages métalliques, où ils reçoivent de la nourriture en forme de croquette, et de l'eau librement. Ces cages correspondent aux trois lots à raison que chaque lot comprend trois sujets. Les rats du premier lot (LT) servent comme témoins (T), en recevant de l'eau potable comme eau de boisson ; le second lot (L1) correspond aux rats traités en recevant de l'eau traité au chlorure de cadmium, à la dose 0,2g/l, et en fin les rats du dernier lot (L2) boivent de l'eau traité à la dose 0,4g/l. Les rats ont été marqués sur la queue à l'aide d'un marqueur et ceci dans le but de repérer chaque rat dans chaque lot à fin de les mieux suivre. Le traitement a été étalé sur six (06) semaines (45 jours), du 20/04/2005 jusqu'au 31/05/2005.

I-2-1. Préparation du traitement

Dans cette étude, nous avons utilisés le « chlorure de cadmium » a deux doses différentes qui sont 0,2 et 0,4g/l comme traitement. Le choix des doses a été fait selon la littérature fournie (Fowler *et al*, 1975 ; Rjanna *et al.*, 1984 ; Boisset, 1996). La préparation du traitement s'effectue par la dissolution des quantités déjà pesées (0,2 et 0,4g) du chlorure de cadmium, dans un litre de l'eau potable (l'eau potable ne doit contenir ni microbes, ni parasites, ni toxiques).

I-2-2. Observations systématiques pendant l'essai

Le suivi du poids corporel a été effectué par la pesée hebdomadaire des animaux (rats) de chaque lot.

I-2-3. Prélèvement du sang

Le prélèvement du sang s'effectue à partir de sinus rétro-orbital de l'œil, à l'aide d'un microcapillaire appelé « hémotube » (Fig. 01). Ce prélèvement a été réalisé sur des tubes secs, ensuite le sang récolté a été centrifugé à 3000 tours/mn, pendant 10 minutes.



Figure 01. Prélèvement du sang à partir de sinus rétro-orbital de l'œil

I-2-4. Prélèvement des organes

Les rats ont été mis dans un dessiccateur contenant de l'éther, jusqu'à la mort. Ensuite les rats ont été déséqués pour le prélèvement des organes (**Fig.02**) à savoir le foie et les reins, les organes prélevés ont été pesés à l'aide d'une balance de précision.



Figure 02. Dissection des animaux et prélèvement des organes

I-2-5. Les dosages biochimiques

I-2-5-1. Dosage de la phosphatase alcaline

I-2-5-1-1.Méthode

Enzymatique, cinétique.

I-2-5-1-2.Principe

Détermination de la phosphatase alcaline (PAL) selon les recommandations DGKC et SCE.



I-2-5-1-3.Composition des réactifs

➤ Réactif 1

-Tampon diéthanoline, PH 10,2	1,25 mol/l
-Chlorure de magnésium	0,625 mmol/l

➤ Réactif 2

P-Nitrophénylphosphate	50 mmol/l
------------------------	-----------

I-2-5-1-4. Préparation de réactif de travail

Mélanger 4volumes de **réactif 1** avec 1volume de **réactif 2**.

I-2-5-1-5. Mode opératoire

On fait mélanger 1ml de réactif de travail avec 20µl de l'échantillon (sérum), après 1minute d'incubation à 37°C, on va lire la densité optique de la phosphatase alcaline à l'aide du spectrophotomètre, la lecture se réalise pendant 3minutes ou autrement dit par intervalles, et selon les paramètres suivants :

-Longueur d'onde	405 nm
-Température	37°C, 30°C, 25°C
-Cuve	trajet optique 1cm
-Zéro de l'appareil	eau distillé

I-2-5-1-6. Calcul

$$\text{Activité } (\mu/l) = (\text{DO2}-\text{DO1})/\text{min} \times 2750$$

I-2-5-2. Dosage des transaminases

I-2-5-2-1. Dosage de TGO

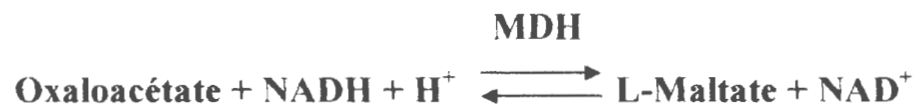
I-2-5-2-1-1. Méthode

Enzymatique.U.V.

Cinétique.

I-2-5-2-1-2. Principe

Détermination de l'aspartate aminotransférase (ALAT) basée sur les recommandations de l'IFCC.



α - Céto= α -Cétoglutarate

MDH = Maltate déshydrogénase

I-2-5-2-1-3. Composition des réactifs**➤ Réactif 1**

- Tampon Tris	97 mmol/l
- L-Aspartate	286 mmol/l
- LDH	≥ 1650 UI/l
- MDH	≥ 990 UI/l

➤ Réactif 2

-Alpha-Cétoglutarate	132 mmol / l
- NADH	2,46 mmol/l

I-2-5-2-1-4. Préparation de réactif de travail

Ajouter au contenu du flacon la quantité d'eau distillée indiquée sur l'étiquette. Mélanger doucement.

I-2-5-2-1-5. Mode opératoire

Introduire dans une cuve de lecture de 1cm de trajet optique, 1ml de réactif de travail, laisser la température s'équilibrer à 30°C puis ajouter 100µl de l'échantillon (sérum), mélanger. Après 1minute, lire l'absorbance à 340nm toutes les minutes pendant 3minutes.

-Trajet optique	1 cm
-Longueur d'onde	340 nm
-Température	30°C, 37°C
-Zéro de l'appareil	eau distillée

I-2-5-2-1-6. Calcul

$$UI/l = (DO_2 - DO_1) / \text{min} \times 1746$$

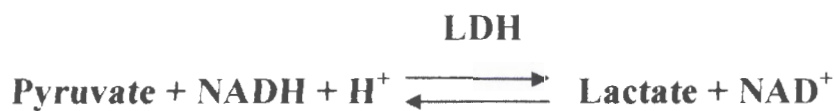
I-2-5-2-2. Dosage de TGP**I-2-5-2-2-1. Méthode**

Enzymatique.U.V.

Cinétique.

I-2-5-2-2-2. Principe

Détermination de l'alanine aminotransférase (ALAT) basée sur les recommandations de l'IFCC.



α -Céto = α -Cétoglutarate

LDH = lactate déshydrogénase

I-2-5-2-2-3. Compositions des réactifs**➤ Réactif 1**

- Tompan Tris, PH 7,50	121	mmol/l
- L-Alanine	660	mmol/l
- LDH	≥1650	UI/l

➤ Réactif 2

- α -Cétoglutarate	176	mmol/l
- NADH	2,46	mmol/l

I-2-5-2-2-4. Préparation de réactif de travail

Ajouter au contenu du flacon la quantité d'eau distillée indiquée sur l'étiquette.

Mélanger doucement.

I-2-5-2-2-5. Mode opératoire

Introduire dans une cuve de lecture de 1cm de trajet optique 1ml de réactif de travail, laisser la température s'équilibrer à 30°C puis ajouter 100µl d'échantillon (sérum), mélanger. Après 1minute, lire l'absorbance à 340nm toutes les minutes pendant 3 minutes.

-Trajet optique	1	cm
-Longueur d'onde	340	nm
-Température	30°C, 37°C	
-Zéro de l'appareil	eau distillée	

I-2-5-2-2-6. Calcul

$$UI/l = (DO_2 - DO_1) / \text{min} \times 1746$$

I-2-5-3. Dosage de l'urée**I-2-5-3-1. Méthode**

Colorimétrique. (Vert)

I-2-5-3-2. Principe

La méthode est basée sur la réaction suivante :



Le salicylate et l'hypochlorite dans le réactif réagissent avec les ions ammoniums pour former un complexe vert (2,2-dicarboxylindophénol).

I-2-5-3-3. Composition des réactifs**➤ Réactif 1**

Uréase	≥500	µ / l
Tampon phosphate	120	mmol/l, PH 7,0
-Salicylate de Sodium	63,4	mmol/l
-Nitroprusside de Sodium	5,00	mmol/l

-EDTA	1,5	mmol/l
➤ Réactif 2		
Hypochlorite de Sodium	18	mmol/l
Hypoxyde de Sodium	750	mmol/l
↓ Etalon		
	8,33	mmol/l

I-2-5-3-4. Préparation de réactif de travail

Ajouter un flacon d'uréase 1 à la bouteille de tampon phosphate 1.

I-2-5-3-5. Mode opératoire

On fait mélanger 1000µl de réactif 1 avec 10µl de sérum et incubé pendant au moins 3 minutes à 37°C, puis ajouter 200µl du deuxième réactif. L'incubation se continue jusqu'à 5 minutes, ensuite on va lire l'absorbance (DO) contre le blanc réactif selon une longueur d'onde de 600nm.

-Trajet optique	1	cm
-Longueur d'onde	600	nm
-Température	25°C, 37°C	

I-2-5-3-6. Calcul

$$\text{Concentration de l'urée (mmol/l)} = \frac{\text{A.échantillon}}{\text{A.étalon}} \times n \quad n=8,33\text{mmol/l}$$

I-2-5-4. Dosage de la créatinine**I-2-5-4-1. Méthode**

Colorimétrique (jaune).

Cinétique.

I-2-5-4-2. Principe

Mesure la formation d'un complexe colorimétrique (coloration jaune orangée) entre la créatinine et le picrate alcalin. La vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la créatinine présente dans l'échantillon.

I-2-5-4-3. Composition des réactifs➤ **Réactif 1**

Acide picrique	8,73	mmol/l
----------------	------	--------

➤ **Réactif 2**

Hydroxyde de Sodium	300	mmol/l
---------------------	-----	--------

Phosphate disodique	25	mmol/l
---------------------	----	--------

↓ **Etalon**

Créatinine	176,8	μmol/l	20mg/l
------------	-------	--------	--------

I-2-5-4-4. Préparation de réactif de travail

Mélanger 1volum de **Réactif 1** avec 1volum de **Réactif 2**.

I-2-5-4-5. Mode opératoire

On fait mélanger 1ml de réactif de travail avec 100μl du sérum, et lire la DO à une longueur d'onde de 492nm, c'est ce qu'on appelle DO1 ou la première lecture, après 10 minutes on va lire la DO2 (2 intervalles de lecture).

-Trajet optique	1	cm
-----------------	---	----

-Longueur d'onde	492	nm
------------------	-----	----

-Température	37°C
--------------	------

I-2-5-4-6. Calcul

$$\frac{(\text{DO}_2 - \text{DO}_1) \text{ échantillon}}{(\text{DO}_2 - \text{DO}_1) \text{ étalon}} \times n \qquad n = 176,8 \mu\text{mol/l} \qquad n = 20\text{mg/l}$$

n: concentration de l'étalon.

I-3. Analyse statistique

L'analyse de différences des poids corporels, poids des organes (foie, et reins) des activités enzymatiques (P.AI, TGO, et TGP) et des concentrations de l'urée et de la créatinine ont été réalisées à l'aide de logiciel EXCEL ,on utilisant le test statistique «Student», qui permet de rejeter un résultat ou de l'accepter, en donnant son intervalle de confiance, ou son écart-type. Les moyennes sont données $(\bar{X}) \pm$ écart-type (SD). Les résultats seront présentés sous forme d'histogrammes.

$$T_{\text{obs}} = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{S^2 \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

Chapitre II

Résultats

II-1. Résultats**II-1-1. Evolution pondérale des animaux**

Les résultats du poids corporel des rats témoins et traités (T, L1, et L2) sont regroupés dans le tableau I.

Pour le lot témoin (T), le poids corporel a augmenté pendant les 06 semaines, cette augmentation progressive des poids est aussi remarquée chez les rats traités à la dose 0,2 g/l (L1). Alors que le poids des rats traités à la dose la plus élevée, on enregistre une perturbation à partir de la 2^{ème} semaine de traitement.

L'analyse statistique par le test « t » Student révèle une augmentation significative ($p < 0,05$) du poids des rats traités à 0,2g/l lors de la 1^{ère} et la 4^{ème} semaine, et hautement significative ($p < 0,001$) lors de la 2^{ème} semaine comparé aux témoins. ainsi que, le poids des rats traités à la dose 0,4g/l montre une augmentation hautement significative ($p < 0,001$) lors des dernières semaines du traitement. comparés aux traités à 0,2g/l, et une augmentation significative ($p < 0.05$) comparés aux témoins lors de la 1^{ère} semaine.

Tableau I. Variations du poids corporel (g) des rats témoins et traités pendant 06 semaines dans les trois lots.

Semaines	00	01	02	03	04	05	06
Témoin	175	192	210	224	229	246	243,5
	183	205	219	231	238	249	239
	159	170	193	201	217	222	248
$\bar{X} \pm SD$	171± 14,42	189± 17,69	207± 13,20	218± 15,69	228± 10,53	239± 14,79	243,5± 4,5
Lot 01	182	211	230	233	246	248	266
	188	216	232	242	245	252	256
	236	243	249	255	252	251	255
$\bar{X} \pm SD$	202± 29,59	223,33± 17,21 a*	237± 10,44 a***	243,33± 11,66	247,66± 3,78 a*	250,33± 2,08	255,33± 0,57
Lot 02	200	276	250	230	226	230	224
	200	209	213	228	221	226	230
	200	199	224	228	228	232	227
$\bar{X} \pm SD$	200±0	228± 41,86 b*	229± 19	228± 1,15	228,33± 7,50 c**	229± 2,64 c***	227± 4,24 c***

a: comparaison entre les témoins et les traités par la dose 0,2 g/l.

b: comparaison entre les témoins et les traités par la dose 0,4 g/l.

c: comparaison entre les traités par la dose 0,2 g/l et les traités par la dose 0,4 g/l.

* : $p < 0,05$

** : $p < 0,01$.

*** : $p < 0,001$.

* : Seuil de signification.

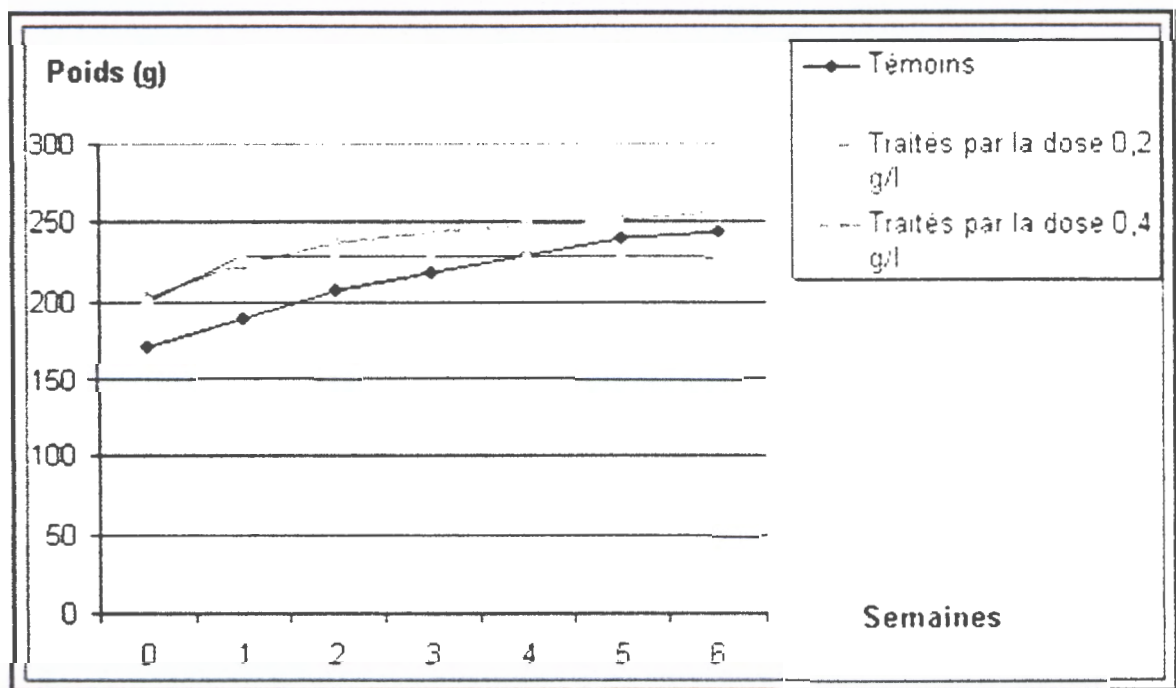


Figure 03. Variations du poids corporel des rats témoins et traités pendant les 06 semaines.

II-1-2. Poids des organes

Le tableau II représente le poids des organes prélevés (foie et reins), les poids des organes augmentent chez les rats traités aux deux doses par rapport aux témoins, sans aucune différence significative. Bien que l'augmentation du poids du foie n'est significative ($p < 0,05$) que chez les rats traités à la dose 0,2g/l.

Tableau II. Variations du poids (g) des organes (foie et reins) chez les témoins et les traités

Lots	Foie	Reins
	moyenne \pm écart-type $\bar{X} \pm SD$	moyenne \pm écart-type $\bar{X} \pm SD$
Témoin	10,3	1,9
	9,8	1,9
	9,6	1,7
	9,9 \pm 0,36 a*	1,83 \pm 0,11
Lot 01	11	1,9
	11,6	2,1
	12,2	2,3
	11,6 \pm 0,6	2,1 \pm 0,2
Lot 02	10,1	2,1
	11,5	1,9
	10,8	02
	10,8 \pm 0,7	02 \pm 00

a: comparaison entre les témoins et les traités par la dose 0,2 g/l.

* : Seuil de signification

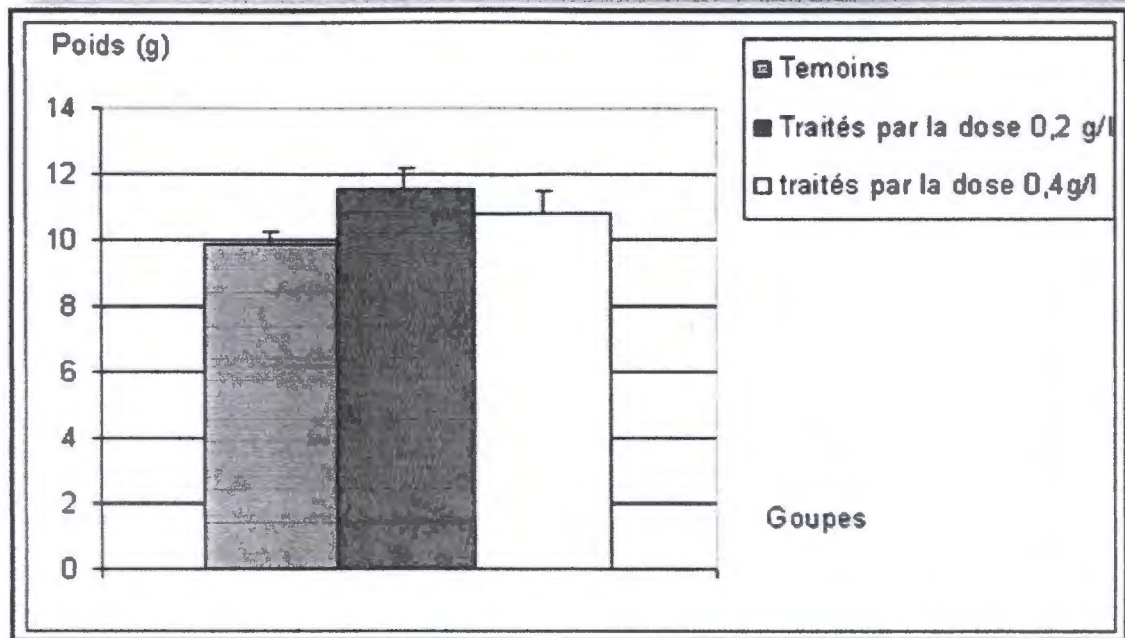


Figure 04. Variations du poids du foie chez les témoins et les traités.

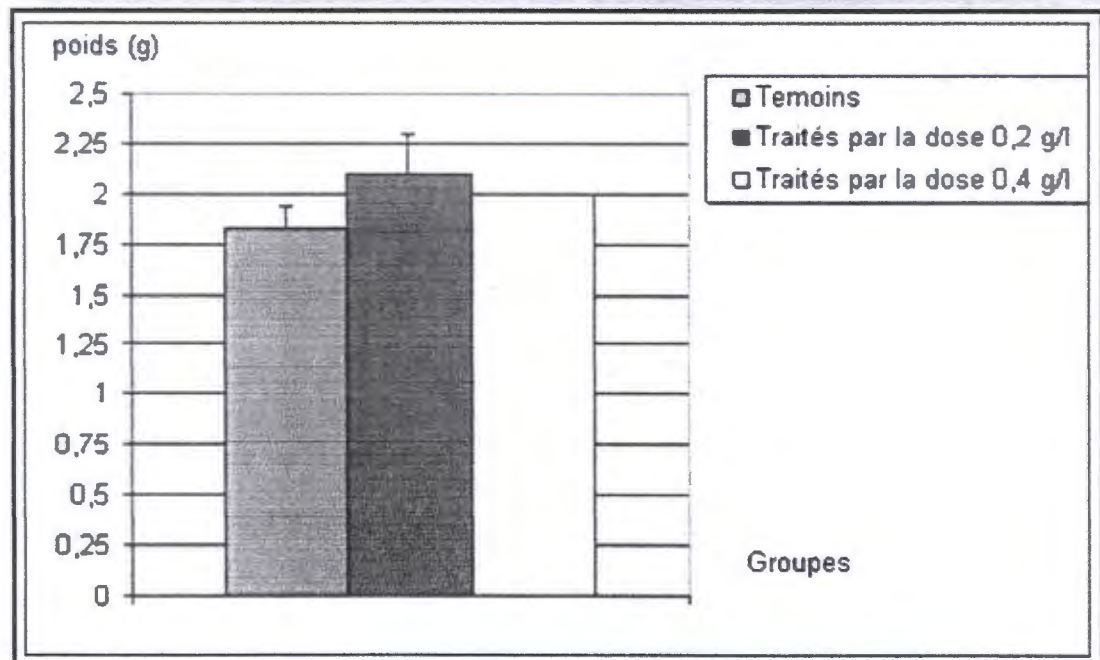


Figure 05. Variations du poids des reins chez les témoins et les traités.

II-1-3. Variations des paramètres biochimiques**II-1-3-1. Activité enzymatique****II-1-3-1-1. La phosphatase alcaline**

Les résultats obtenus révèlent une augmentation de l'activité de la phosphatase alcaline chez les rats traités aux doses 0,2 g/l et 0,4 g/l par rapport au témoins. Ainsi que l'étude statistique test«t» Student montre qu'il y a une différence significative ($t=4,41$, $p<0,05$) entre les rats témoins et les rats traités à 0,4g/l.

Tableau III. Variation de l'activité de la phosphatase alcaline (UI/l) chez les témoins et les traités

LOT Echantillon	Témoins	Traités 1^{ere} dose (0,2 g/l)	Traités 2^{eme} dose (0,4 g/l)
1	182,7	250	304
2	253,56	275,6	360
3	214	309	332
$\bar{X} \pm SD$	216,75 \pm 35,51	278,2 \pm 29,58	332 \pm 28 b*

b: comparaison entre les témoins et les traités par la dose 0,4 g/l.

* : Seuil de signification.

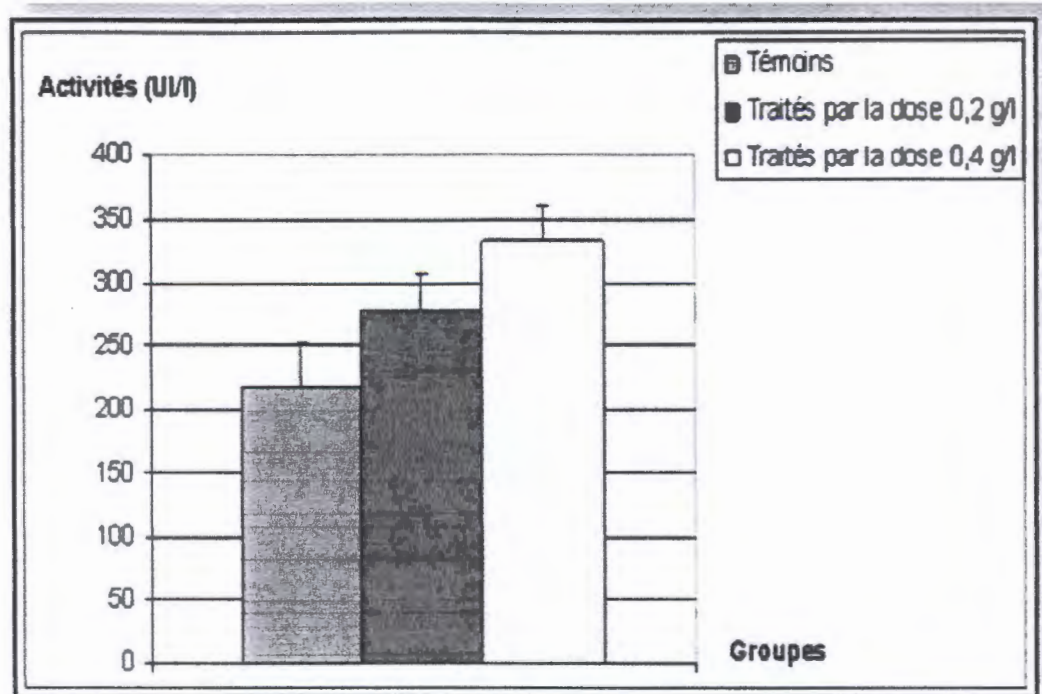


Figure 06. Variations de l'activité de la phosphatase alcaline (U/l) chez les témoins et les traités.

II-1-3-1-2. TGO

Nous avons constaté une augmentation de l'activité de la TGO (U/l) chez les deux groupes traités par les doses 0,2 g/l et 0,4 g/l par rapport aux témoins sans qu'il y ait une différence significative.

Tableau IV. Variation de l'activité de la TGO (U/l) chez les témoins et les traités.

LOT Echantillon	Témoins	Traités 1 ^{ere} dose (0,2 g/l)	Traités 2 ^{eme} dose (0,4 g/l)
1	101	95	112
2	89	124	109
3	117	109	110,5
$\bar{X} \pm SD$	102,33 ± 14,04	109,33 ± 14,5	110,5 ± 1,5

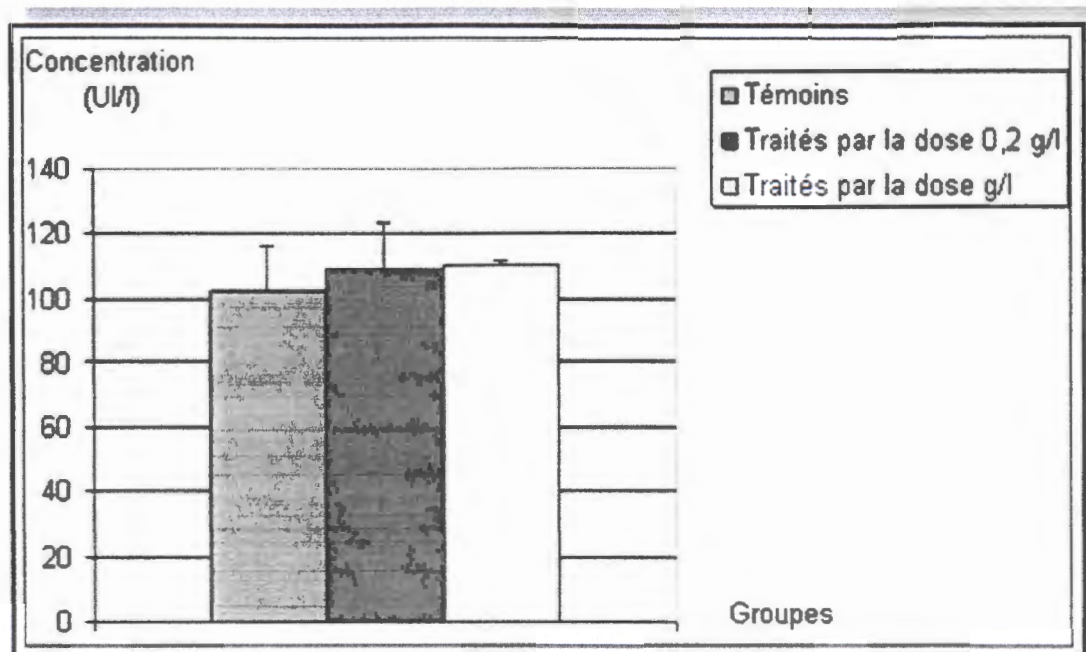


Figure 07. Variation de l'activité de la TGO (UI/l) chez les témoins et les traités.

II-1-3-1-3. TGP

Les résultats obtenus montrent que l'activité de la TGP augmente chez les deux groupes traités, mais le test « t » révèle que cette augmentation n'est significative ($p < 0,05$) que chez les rats traités à la dose 0,4g/l par rapport aux rats traités à la dose 0,2 g/l.

Tableau V. Variation de la activité de la TGP (UI/l) chez les témoins et les traités.

LOT Echantillon	Témoins	Traités 1 ^{ère} dose (0,2 g/l)	Traités 2 ^{ème} dose (0,4 g/l)
1	27	43	39
2	24	29	52
3	30	30	45,5
$\bar{X} \pm SD$	27 ± 3	$34 \pm 7,81$	$45,5 \pm 6,5$ b*

b: comparaison entre les témoins et les traités par la dose 0,4 g/l.

* : Seuil de signification.

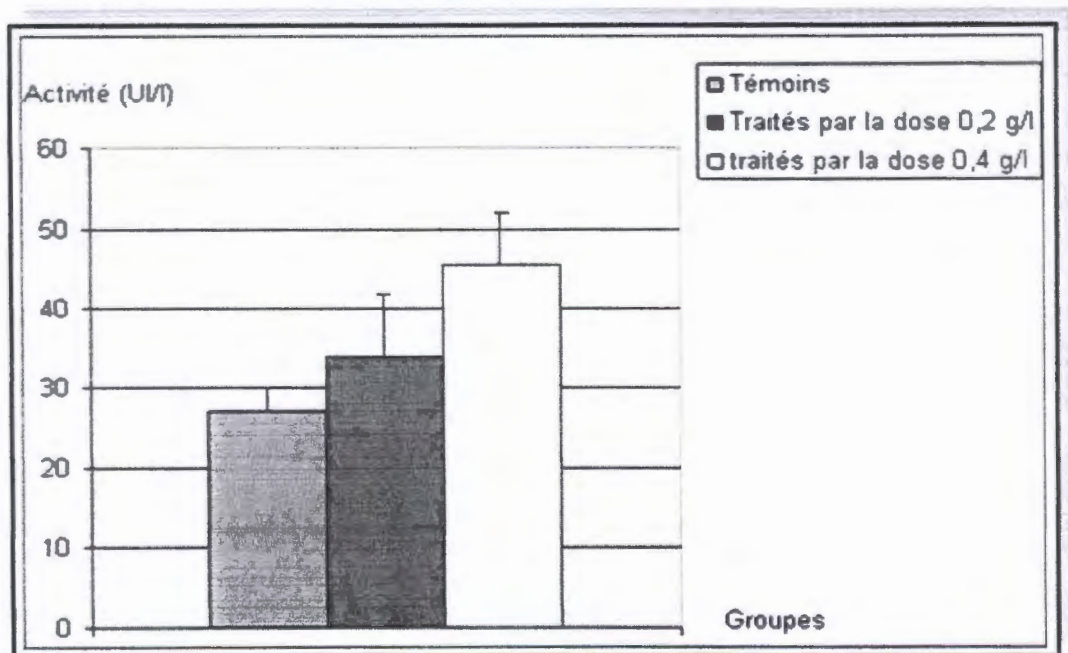


Figure 08. Variation de l'activité de la TGP (UI/l) chez les témoins et les traités.

II-4-2. Variations de la concentration de l'urée et de la créatinine

II-4-2-1. L'urée :

Les données obtenues révèlent une augmentation de la concentration de l'urée chez les deux groupes traités par les doses 0,2g/l et 0,4 g/l, sans aucune différence significative entre les trois groupes.

Tableau VI. Variation de la concentration de l'urée (mg/l) chez les témoins et les traités.

Echantillon \ Groupe	Témoins	Traités 1 ^{ère} dose (0,2 g/l)	Traités 2 ^{ème} dose (0,4 g/l)
1	0,19	0,49	0,32
2	0,27	0,39	0,49
3	0,35	0,24	0,40
$\bar{X} \pm SD$	0,27 \pm 0,08	0,40 \pm 0,07	0,40 \pm 0,12

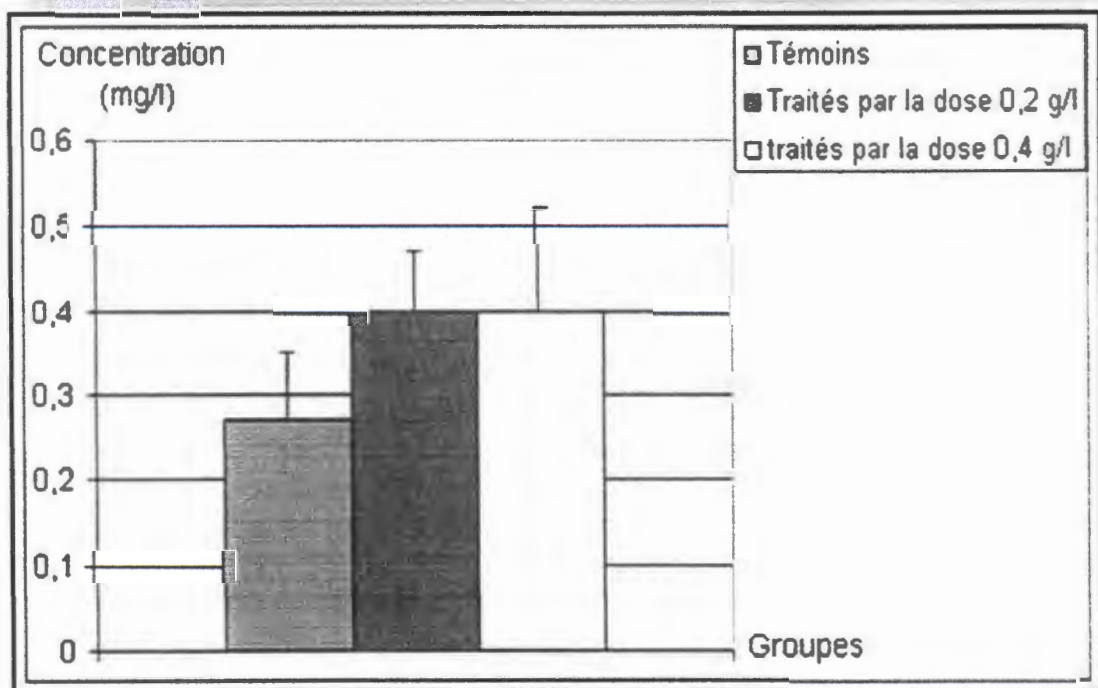


Figure 09. Variation de la concentration de l'urée (mg/l) chez les témoins et traités.

II-1-4-2. La créatinine :

Les résultats de l'analyse biochimique ont montré une augmentation de la concentration de la créatinine chez les groupes traités par les doses 0,2 g/l et 0,4 g/l cependant, l'analyse statistique test «t» Student révèle qu'il n'existe pas une différence significative entre les trois groupes.

Tableau VII. Variation de la concentration de la créatinine (mg/l) chez les témoins et traités

Echantillon \ Groupe	Témoins	Traités 1 ^{ère} dose (0,2 g/l)	Traités 2 ^{ème} dose (0,4 g/l)
1	9,575	11,27	9,081
2	4,927	13,37	12,27
3	9,607	9,53	10,67
$\bar{X} \pm SD$	7,251 \pm 3,28	11,39 \pm 1,92	10,67 \pm 2,25

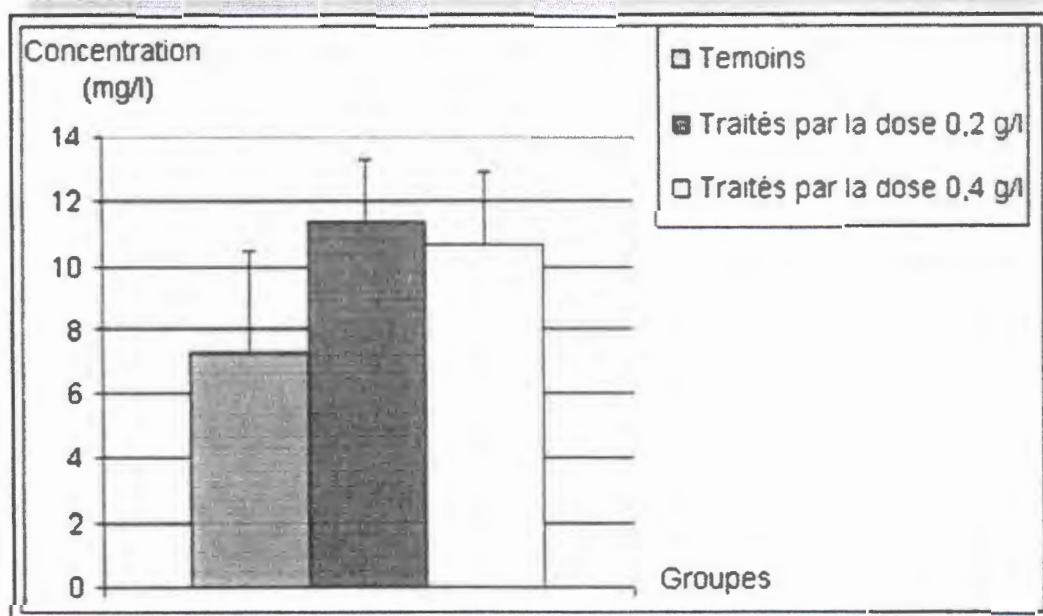


Figure 10. Variation de la concentration de la créatinine (mg/l) chez les témoins et traités

Chapitre III

Discussion

L'évaluation du poids corporel hebdomadaire montre une augmentation du poids des rats témoins traduite par une croissance naturelle des animaux, de même les rats traités à la dose 0,2g/l ont révélé une prise de poids naturelle lors des six semaines du traitement. Cependant, les rats traités à la dose 0,4g/l ont montré une perturbation du poids à partir de la deuxième semaine jusqu'à la fin du traitement. Cette perturbation pourrait être expliquée par l'effet toxique du cadmium sur la physiologie de l'organisme notamment chez des rats susceptibles par leur jeune âge (Frank, 1992). Des résultats similaires ont été signalés chez des rats traités par le cadmium (Machtar *et al.*, 2004). Ainsi que chez des travailleurs exposés au plomb (Bismuth, 2000).

En ce qui concerne les poids des organes relevés après la dissection des animaux témoins et traités, nous avons constaté une élévation du poids de foie chez les deux groupes traités par rapport aux témoins malgré que cette augmentation n'est significative que chez les rats traités à la dose 0,2g/l. Par ailleurs Frank, 1992 rapporte que les variations du poids du foie sont souvent des indicateurs sensibles de toxicité. Dans notre cas cette variation pourrait être expliquée par les remaniements inflammatoires secondaires aux effets toxiques du cadmium sur les hépatocytes.

Quant aux poids des reins nous avons enregistré une augmentation non significative du poids des reins chez les deux groupes traités. Les modifications pondérales de l'organe par rapport aux témoins suggèrent souvent des lésions rénales (Frank, 1992). Qui pourraient être traduites par les phénomènes inflammatoires dont plusieurs parties du rein sont le siège (Boisset, 1996).

Le dosage biochimique de la créatininémie et de l'urémie a révélé une élévation du taux de la créatinine ainsi que du taux de l'urée chez les deux groupes traités par rapport aux témoins, par ailleurs le dosage de la créatinine sérique constitue le mode d'évaluation le plus répandu de la fonction rénale dans la mesure

où la créatininémie est corrélée au débit de la filtration glomérulaire. Cependant, la valeur de la créatininémie ne reflète pas seulement l'excrétion rénale, résultante de la filtration glomérulaire et d'une sécrétion tubulaire, mais aussi l'absorption digestive et le métabolisme de la créatinine (Lacour, 1992). Cette diminution de la filtration glomérulaire a été constatée chez les travailleurs exposés au cadmium (Bernard, 1976), et chez des lapins traités par le cadmium (Guilhermino *et al.*, 1998). En plus Bismuth, 2000 confirme que l'élévation de la créatinine plasmatique traduit le passage au stade de néphropathie tubulo-interstielle, avec possibilité d'évolution vers l'insuffisance rénale chronique sévère après plusieurs années d'exposition.

De même, le taux élevé de l'urémie indique généralement une atteinte glomérulaire ou une hépatotoxicité fréquente avec de nombreux toxiques (Brenner *et al.*, 1977).

Les travaux de (Alain et Bélair, 1986) expliquent l'augmentation de l'urémie par un dysfonctionnement au niveau des néphrons. Nos résultats sont en accord avec ceux de (Sackar *et al.*, 1998, Guilhermino *et al.*, 1998).

Le dosage enzymatique à savoir, la phosphatase alcaline, la TGO et la TGP, a révélé une augmentation de l'activité de ces trois enzymes chez les deux groupes traités comparés à celle des témoins ainsi, il est connu que le foie est impliqué dans le métabolisme des glucides, des lipides et des protéines, il est aussi le principal site de biotransformation des toxiques (Zimmerman, 1982). Cependant, la présence dans le sérum de nombreuses enzymes libérées à partir du cytosol et des organites subcellulaires (mitochondries, lysosomes et noyaux) après atteinte hépatique a été utilisée comme indicateur d'hépatotoxicité (Frazier et Kingsley, 1976).

Par ailleurs l'augmentation de l'activité de la phosphatase alcaline est due aux maladies hépatiques et osseuses (Redouane Salah, 2001). En plus l'augmentation de la TGP exprime une hépatite. Quant à celle de la TGO, elle

s'élève lors d'une embolie pulmonaire, des atteintes hépatiques ,et dans le cas d'infarctus du myocarde (Redouane Salah, 2001).

Ajoutant à l'augmentation de ces enzymes sérique, l'augmentation du poids du foie. On peut alors, en se basant sur les interprétations des quatre paramètres ensembles, conclure qu'il s'agit d'une hépatite toxique due à l'action du cadmium.

Conclusion

Ce travail nous a permis d'extrapoler le poids corporel, les poids des organes, le dosage de la créatinine et de l'urée ainsi que le dosage des enzymes (la phosphatase alcaline, TGO, TGP), chez les rats témoins et traités par le chlorure de cadmium aux doses 0,2g/l et 0,4g/l respectivement et après 06 semaines de traitement :

L'examen de la croissance corporel montre une perturbation du poids corporel que chez les rats traités à la dose 0,4g/l à partir de la deuxième semaine.

Ainsi qu'une augmentation du poids des organes (foie et reins) a été enregistrée.

Le dosage biochimique a montré une augmentation de l'urémie et de la créatininémie en plus de l'élévation de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline, de la TGO et la TGP.

L'augmentation de ces paramètres biochimiques investigués, ainsi que du poids des organes indique que le cadmium entraîne une atteinte rénale associée à une hépatotoxicité.

Il serait plus intéressant d'effectuer des coupes histologiques sur les organes augmentés de volume pour fournir plus d'information sur la lésion qu'est à l'origine.

Pour l'interprétation des chiffres d'urée et de créatinine qui sont en faveur d'une insuffisance rénale, elles seront mieux exploitées avec le calcul du débit de filtration glomérulaire.

Le retentissement des lésions hépatiques sur la fonction du foie pourrait être repéré par le dosage de l'albumine, et des taux de prothrombine.



Références
bibliographiques

Références bibliographiques

- Alain B & Bélair P. 1986.** Essentiel médical biologique du soin clinique et biologique au diagnostic et traitement pratique, Ed: Masson. Paris, pp 845-846.
- Baud P .1962.** «cadmium» in: P.Pascal.Nouveau traité de chimie minérale. Ed :Masson.Paris.
- Bernard A ., Page A. L & Stoepler M. 1996.** Cadmium uses, occurrence and intake. *Toxicol*, 1, 23-63.
- Bernard A ., Roels H ; Buchet J. L & Lauwerys R. 1976.** Characterization of the proteinuria in cadmium exposed workers.*Int.Arch.Occup.Environ.Health.*
- Bismuth C .2000.** Toxicologie clinique. Ed : (5) Flammarion, Paris. Médecine-Sciences, pp.
- Boisset M. 1996.** Plomb, Cadmium et mercure dans l'alimentation : évaluation du risqué, Conseil supérieur d'hygiène publique de France, Lavoisier, Paris, pp 237.
- Bousbia L ., Dourek L & Ghaleb N. 2001.** Etude de l'effet préventif des flavonoïdes (DAFLON 500mg) sur la néfrotoxicité d'un médicament anticancéreux (Cisplatin 500 mg) chez le rat. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention de diplôme d'études supérieures en biologie. Option Biochimie. Université de Jijel.

Références bibliographiques

- Boutana F. Z., Boutanoune H & Baiout A. 2004.** Contribution à l'étude de toxicocinétique d'un métal lourd (le cadmium) chez les rats de laboratoire-wistar-. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme des études supérieures en biologie. Option Biochimie. Université de Jijel.
- Brenner B. M., Bohcer M. P., Baglis C & Deen W. M. 1997.** Determinations of Glomerular permeability : Insights derived from observations *in vivo*. *Kidney Int.* **12**: 229-257.
- Cessac J. 1996.** Chimie. Ed : Fernand Nathan.Paris.
- Chang C . C., Lauwerys S. R ., Bernard A ; Roels H ; Buchet J.P & Garvey J.S. 1980.** Methallothionin in Cadmium exposed workers.*Environ Research*.pp
- Commerzan O. 1976.**Bilan du cadmium dans l'environnement.Ministère de la qualité de la vie et de l'environnement.
- Doull J. 1986.** Origin and scope of toxicology in : Cesareu and doull's toxicology.Ed. Klaasseu.C.D;Amdur.M.O and Doull.J.New york:Macmillan.PP.
- Edward B. 2003.** Cadmium : Stratégie de prévention dépistage .Ed: MASSON. Paris. pp.

ElHadeF -el okki M. 2002. Evaluation de la pollution métallique (Cd, Cu, Pb, et Zn) des sols des bords d'oued boumerzoug (constantine) par le lumbricidae. Mémoire de magister. Option: Pollution et toxicologie. Université de Constantine.

Fowler B. A. 1992. Mechanisms of kidney cell injury from metals. *Environ. Health. Prespect*, 100, 57-63.

Frank L. 1992. Toxicologie : données générales, procédure d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque. Ed : (3) MASSON. Paris pp.305-306.

Frazier J .M & Kingsley B.S. 1976. Kinetics of cadmium transport in the isolated perfused rat liver. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 38 :583-593.

Goodman & Gilman. 1998. Les bases pharmacologiques de l'utilisation des médicaments. Ed : (9) Mc.Graw.Hill. pp 1692, 1642-1644.

Guilhermino L ., Soares A ;Carvalho P & Lopes M.1998. Effect of cadmium and parathion exposure on hemologie blood biochemistry of adult male rats. *Bull, Environ, Contam, Toxicol*, 60, 52-59.

Herber R. 1994. Cadmium in: Handbook on metals in chimical and analytical chemistry. Ed Dekker. 286-297.

Références bibliographiques

Kerboua F. 2003. Evolution de la contamination métallique (Cd, Cu, Pb et Zn), des soles de bord d'oued boumerzoug (constantine) par le lumbricidae .2003.

Lacour B. 1992. Créatinine et fonction rénale. *Néphrologie*, **13**, 78-81.

Lauwerys R. 1982. Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles..Ed : (2), MASSON, Paris. pp

Lauwerys R. 2000. Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. Ed : (4) MASSON, Paris. pp.

Machtar C ., Maakouf S & Souyad H. 2004. Contribution à l'étude de l'effet toxique du cadmium sur quelques paramètres hématologiques chez les rats. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme DES. Option : Biochimie. Université de Jijel. 37p.

Charrel M. 1991. Sémiologie biochimique. Ed .ellipses. pp.

Nogawa K., Tsuritani A., Kido T., Honda R., Yamada & Ishizaki M. 1987. Mechanism for bone disease found in habitants environmentally exposed to cadmium decreased serum $1.\alpha$ 25-Dihydroxy vitamin D level, *I.N.T, Archm Occup, Environ, Health*, **59**, 21-30.

- Polonovski M. 1971.** Biochimie médicale. Huitième édition. Fascicule III : Sang .Heumeurs .Tissus.Organes :Biochimie physiologique et sémiologique.Ed ;Masson et Cie éditeurs.
- Polonovski M. 1973.** Biochimie médicale.Dixième édition.Fascicule II :Enzymes et métabolismes.Ed : Masson et Cie éditeurs.
- Redouane Salah S.2001.**Exploration biologique de la fonction hépatique.Mémoire de fin d'étude.Option :Biochimie. Faculté des sciences.Département des sciences de la nature.Université Menturi-constantine.pp-55.
- Rjanna M., Hobsom M & Resse J.1984.** Chronic hepatic and renal toxicity by cadmium in rats.*Drug.Chem.Toxicol.*7,229-241.
- Sarkar ., Yadav Pet B hatanger D.1989.** Lipid peroxidative damage on cadmium exposer in antioxidant system in rat erythrocytes study with relation to time.*Biometals.*11, 153-157.
- Terahiko K., Nogawa K ., Hochi Y & Hayano H.1993.** The renal handling of cadmium and phosphorus in environmental cadmium exposed subject with renal dysfunction.*App.Toxicol.*13,43,47.
- Testud F. 1992.** Pathologie toxique en milieu de travail, Centre de Pharmacotoxicovigilance, et Centre Anti-poisons. Herriot. Lyon. Ed : Alexandre lacassagne Lyon. pp

Zimmerman H. J. 1982. Chemical hepatic injury an its detection. *Toxicology of the liver*. Eds: G. L. Plaa and W. R. Hewitt. New York: Raven Press.

بوسيل سمية 2002 . تاثير تعاطي جرعات مزمنة عن الارنب المحلي cuniculus lepus دراسة
بيو كيميائية ، تكاثرية ونسجية . مذكرة التخرج لنيل شهادة الماجيستر . تخصص التسمم البيئي الحيواني
كلية العلوم ، جامعة باجي مختار . عنابة 88 ص

Présenté par :

- Chaalal fatma zohra
- Gueham amel
- Halim messaouda

Date de soutenance : 03 / 07 /2005

Thème :

Contribution a l'étude de l'effet de l'intoxication subchronique par le cadmium sur quelques paramètres biochimiques liés à la fonction hépatique et rénale chez les rats - wistar -

Résumé :

Ce travail porte sur l'évaluation de l'effet toxique du cadmium sur la fonction hépatique et rénale.

Le traitement des animaux par le cadmium aux doses (0,2g/l et 0,4g/l) étalé sur une période de six (06) semaines a montré une perturbation du poids corporel que chez les rats traités à la dose la plus élevée. Cependant, une augmentation du poids des reins et du foie a été signalée.

Le cadmium entraîne une augmentation de la concentration de la créatinine, de l'urée, de l'activité de la phosphatase alcaline de la TGP ainsi que de la TGO Chez les deux groupes traités.

Summary :

This work deals with the elevation of the toxic effect of the cadmium on the hepatic and renal function.

The traitement of the animals with cadmium with two doses (0.2g/l,0.4g/l) during six weeks has shown a perturbation of the weight of the rats treated with (0.4g/l). However, the weight of the liver and kidneys increased.

The cadmium increases the concentration of the creatinin , of the urea, and the activity of the alkaline phosphatase of the TGP and also the TGO for both the two groups treated .

المخلص:

يهدف هذا العمل إلى المساهمة في تقدير التأثير السمي للكاديوم على الوظيفة الكبدية و الكلوية.

معالجة الحيوانات بجرعتين مختلفتين من الكاديوم (0,2 غ/ل و 0,4 غ/ل) و التي امتدت فترة ستة (06)

أسابيع بينت:

تذبذب في وزن أجسام الفئران المعالجة بالجرعة الأكبر في حين سجلنا ارتفاع في وزن الكلى و الكبد.

الكاديوم يؤدي إلى ارتفاع في تركيز الكرياتينين ، اليوريا ، نشاط الفوسفاتاز القلوي ، TGO و TGP

عند كلى المجموعتين المعالجتين.

Mots clés :

Métaux lourds, Cadmium, Intoxication subchronique, Créatinine, Urée, Phosphatase alcaline, Transaminases (TGO, TGP), Toxique.

Encadreur :

M^{cile} :GHORAB . Ismahane