

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
جامعة باجي مختار - عنابة  
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA



FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE  
LABORATOIRE DE BIOCHIMIE ET DE MICROBIOLOGIE APPLIQUEES

Thèse En vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle (LMD)

En BIOCHIMIE  
Option : Biochimie Appliquée

Intitulée

**L'importance des antioxydants (Gingembre) dans  
la réduction des effets toxiques induits par  
les chromates chez les rats**

Présentée par : M<sup>lle</sup> KRIM Meriem

Directeur de thèse : M. SAKA Saad

Professeur, Université d'Annaba

Membres de Jury:

Président :

M. KECHRID Zine

Professeur, Université d'Annaba

Examineurs :

M. ABDENNOUR Cherif

Professeur, Université d'Annaba

M. NECIB Youcef

Professeur, Université de Constantine

M. LALAOUI Korrichi

Professeur, Université de Constantine

Année universitaire : 2013/2014

# Remerciements

*Cette thèse marque l'aboutissement de plusieurs années de travail intense et enrichissant et elle n'aurait pas fini, si je n'avais pas été soutenue et encouragée, c'est pourquoi je saisis cette occasion pour exprimer ma gratitude et mon obligeance.*

*Avant toute chose, je remercie « Allah », l'omnipotent, pour m'avoir donné la force, la patience et le courage pour mener ce travail à son terme.*

*Ma profonde gratitude s'adresse à la personne qui m'a proposé ce sujet de thèse et qui m'a encadrée tout au long de ces années d'étude : mon promoteur, le professeur **SAKA Saad**. Au travers de nos discussions, il m'a apporté une compréhension plus approfondie des divers aspects du sujet. Je salue aussi la disponibilité, la souplesse, l'ouverture d'esprit et surtout la connaissance du sujet de mon directeur de thèse qui a su également me laisser une large marge de liberté pour mener à bien ce travail de recherche.*

*J'exprime mes profonds remerciements aux membres de jury qui ont bien voulu juger ce travail :*

*M. **KECHRIJ Zine**, professeur à l'université d'Annaba qui m'a fait l'honneur de présider ce jury,*

*M. **ABDENNOUR Cherif**, professeur à l'université d'Annaba qui a bien voulu examiner ce travail,*

*M. **NECIB Youcef**, et M. **LALAOUI Korrichi**, professeurs à l'université de Constantine qui m'ont fait l'honneur en acceptant de participer à ce jury malgré leurs multiples occupations.*

*Je voudrais ensuite adresser un remerciement particulier à Mme **AOUACHERI Ouassila**, maître de conférences à l'université d'Annaba, pour sa gentillesse et ses conseils précieux,*

*J'adresse mes sincères remerciements à M. **BOULAKOUD Mohamed Salah**, professeur à l'université d'Annaba, qui m'a permis de travailler au sein de son laboratoire.*

*Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à M. et Mme **Djafer** pour la fourniture des kits et des réactifs.*

*Je tiens évidemment à remercier l'ensemble du personnel des deux laboratoires : Biochimie et Microbiologie appliquées et Ecophysiologie animale, en particulier : Tahar, Rym, Lazhar et Mouna pour leur disponibilité et les nombreux services qu'ils m'ont rendus durant la réalisation de ce travail.*

*Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à l'ensemble du personnel du service d'anatomie pathologique « Hôpital IBN ROCHD » Annaba, pour la réalisation des coupes histologiques.*

*J'associe à mes remerciements mon cousin Nabil et le docteur Madoui, maitre assistant à l'hôpital militaire de Constantine pour la photographie et l'interprétation des coupes histologiques.*

*J'exprime ma reconnaissance toute particulière et ma gratitude, qui ne seront jamais concrètement exprimées à l'égard de mon amie Amira, pour son aide précieuse et chaleureuse et son inestimable collaboration.*

*Je tiens à remercier tous mes amis et collègues pour la présence permanente durant les décapitations et qui m'ont aidée à chaque fois que j'en ai eu besoin, spécialement : Ibtissem et Amina, et je les remercie aussi pour les sympathiques moments qu'on a passés ensemble.*

*Un grand merci à mes amies : Warda, Hanene, Safia, et Manel, pour leurs encouragements et leur amour.*

*Un énorme merci également à Fichem, pour son soutien de tous les jours.*

*Ce doctorat n'aurait jamais vu le jour sans le soutien de mon extraordinaire famille. Il m'est impossible d'exprimer en quelques mots combien je leur suis reconnaissante, aussi je ne le tenterai même pas. Je leur dis simplement : merci !*

*Mes sentiments de reconnaissance vont également à tout ceux et celles qui m'ont encouragée, entourée de leur soutien durant les moments difficiles avec tant d'amour et de compréhension*

*Enfin, que tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude. Et Merci à tous ceux que j'ai oublié, qu'ils m'en excusent. ...*

*Merci à tous*

# Dédicace

*A l'aide d'Allah, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :  
A mes très chers parents en témoignage de ma reconnaissance pour leur patience,  
leurs sacrifices et leur soutien tout au long de mes études. Qu'Allah leurs prête  
santé*

*A mes sœurs : Amina et Khaoula, A mon frère: Takieddine et A ma grand-mère  
en témoignage de mon affection et ma reconnaissance pour leurs encouragements*

*A tous mes amis et collègues en témoignage de mes sentiments les meilleurs*

*A tout le groupe de ma promotion*

*A tous ceux que j'aime, sans lesquels tout ceci n'aurait aucun sens...*

## *Liste des abréviations*

**ALAT** : Alanine aminotransférase

**ArOH** :  $\alpha$ -tocophérol

**ArO•** : Tocopheroxyde lipidique

**ASAT** : Aspartate aminotransférase

**CAT** : Catalase

**CCMH** : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

**CDNB** : 1-chloro, 2,4-dinitrobenzène

**Cr** : Chrome

**Cr (III)** : Chrome trivalent

**Cr (IV)** : Chrome à valence 4

**Cr (V)** : Chrome à valence 5

**Cr (VI)** : Chrome hexavalent

**CrO<sub>4</sub><sup>2-</sup>** : Chromate

**Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>2-</sup>** : Dichromate

**Cu/Zn-SOD** : Superoxyde dismutase

**DBIL** : Bilirubine directe

**DTNB** : Acide 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoïque) ou réactif d'Ellman

**EDTA** : Ethylène diamine tétra-acétique

**ERO** : Espèce réactive de l'oxygène

**Fe<sup>2+</sup>** : Ion ferreux

**Fe<sup>3+</sup>** : Ion ferrique

**GB** : Globule blanc

**GPx** : Glutathion peroxydase

**GSSG** : Glutathion oxyde

**GR** : Glutathion réductase

**GR** : Globule rouge

**GSH** : Glutathion réduit

**Hb** : Hémoglobine

**HT** : Hématocrite

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène

**K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>** : Dichromate de potassium

**LDL** : Lipoprotéines de densité légère

**LDH** : Lactate déshydrogénase

**LOOH** : Hydroperoxyde lipidique

**LOO•** : Radical peroxyde lipidique

**LY** : Lymphocyte

**MDA** : Malondialdéhyde

**Mn-SOD** : Superoxyde dismutase

**MO** : Monocytes

**NADPH** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit

**NO•** : Monoxyde d'azote

**<sup>1</sup>O<sub>2</sub>** : Oxygène singulet

**•OH** : Radical hydroxyle

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>** : Anion superoxyde

**PAL** : Phosphatase alcaline

**PLT** : Plaquettes

**ROOH** : Hydroperoxyde lipidique

**ROH** : Alcool

**ROS** : Reactive oxygen species

**Se** : Sélénium

**Se-Cys** : Sélénocystéine

**-SH** : Groupement sulfhydrile

**SOD** : Superoxyde dismutase

**TBA** : Acide thiobarbéturique

**TBIL** : Bilirubine totale

**TCA** : Acide trichloroacétique.

**VEM** : Valeur d'exposition moyenne

**VGM** : Volume globulaire moyen des hématies

**Vit** : Vitamine

**VIH** : Virus de l'immunodéficience humaine

**Zn** : Zinc

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1</b> : Les concentrations du chrome dans l'environnement	26
<b>Tableau 2</b> : Les utilisations industrielles de composés du chrome	28
<b>Tableau 3</b> : Classification botanique du gingembre	43
<b>Tableau 4</b> : Les principaux pays producteurs du gingembre	44
<b>Tableau 5</b> : Valeurs nutritionnelles du gingembre	46
<b>Tableau 6</b> : Propriétés pharmacologiques du gingembre	49
<b>Tableau 7</b> : Composition du régime alimentaire pour un 1 kg d'aliment	54
<b>Tableau 8</b> : Variations des rapports organo-somatiques (%) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne $\pm$ SD de 10 rats)	89
<b>Tableau 9</b> : Variation des paramètres hématologiques chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne $\pm$ SD de 10 rats)	92
<b>Tableau 10</b> : Variation de la concentration du glucose (g/L) sanguin chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne $\pm$ SD de 10 rats)	98
<b>Tableau 11</b> : Variation de la concentration sérique de l'urée, créatinine et acide urique chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne $\pm$ SD de 10 rats)	101
<b>Tableau 12</b> : Variation de l'activité enzymatique de l'ASAT, l'ALAT, la LDH, la PAL, et la concentration sérique en TBIL et DBIL chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne $\pm$ SD de 10 rats)	106
<b>Tableau 13</b> : Variation de la concentration sérique des lipides totaux, des triglycérides et du cholestérol chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne $\pm$ SD de 10 rats)	112



<p><b>Tableau 14</b> : Taux du glutathion (nM/mg prot) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) dans le foie, les reins, les testicules, les intestins, le cœur et la rate après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne <math>\pm</math> SD de 10 rats)</p>	<p>117</p>
<p><b>Tableau 15</b> : Taux du malondialdéhyde (nM/mg de tissu) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) dans le foie et les reins après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne <math>\pm</math> SD de 10 rats)</p>	<p>124</p>
<p><b>Tableau 16</b> : Activité enzymatique de la glutathion peroxydase (<math>\mu</math>M GSH/mg prot), la glutathion S-transférase (nM GSH-CDNB/min/mg prot) et la catalase (<math>\mu</math>M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/min/mg prot) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) dans le foie et les reins après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne <math>\pm</math> SD de 10 rats)</p>	<p>129</p>

## *Liste des figures*

<b>Figure 1</b> : La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants	5
<b>Figure 2</b> : Les principales réactions conduisant à la production des ROS	7
<b>Figure 3</b> : Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire	19
<b>Figure 4</b> : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés	21
<b>Figure 5</b> : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules	22
<b>Figure 6</b> : Schéma illustrant les différentes voies d'entrée du chrome dans le corps humain	32
<b>Figure 7</b> : Absorption et réduction du chrome au niveau de la cellule	33
<b>Figure 8</b> : Les lésions génétiques induites par le chrome	38
<b>Figure 9</b> : Les réducteurs biologiques du Cr (VI) et ses réactions	39
<b>Figure 10</b> : Zingiber officinale (Roscoe)	42
<b>Figure 11</b> : Rhizome du gingembre	43
<b>Figure 12</b> : Principaux constituants biologiques actifs du gingembre	48
<b>Figure 13</b> : Schémas récapitulatif du protocole expérimental	56
<b>Figure 14</b> : Evaluation du poids corporel (g) des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement.	88
<b>Figure 15</b> : Variations des rapports organo-somatiques (%) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement.	90
<b>Figure 16</b> : Variation du nombre des globules blancs ( $10^3/\mu\text{L}$ ) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	93
<b>Figure 17</b> : Variation du nombre des globules rouges ( $10^6/\mu\text{L}$ ) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	93

<b>Figure 18</b> : Variation du taux de l'hémoglobine (g/dL) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	94
<b>Figure 19</b> : Variation du pourcentage de l'hématocrite (%) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	94
<b>Figure 20</b> : Variation du volume globulaire moyen (fl) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	95
<b>Figure 21</b> : Variation du taux de la CCMH (pg) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	95
<b>Figure 22</b> : Variation du nombre des plaquettes ( $10^3/\mu\text{L}$ ) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	96
<b>Figure 23</b> : Variation du nombre des lymphocytes ( $10^3/\mu\text{L}$ ) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	96
<b>Figure 24</b> : Variation du nombre des monocytes ( $10^3/\mu\text{L}$ ) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	97
<b>Figure 25</b> : Variation de la concentration du glucose sanguin (g/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	99
<b>Figure 26</b> : Variation de la concentration sérique de l'urée (g/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	102
<b>Figure 27</b> : Variation de la concentration sérique de la créatinine (mg/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	102
<b>Figure 28</b> : Variation de la concentration sérique de l'acide urique (mg/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	103
<b>Figure 29</b> : Variation de l'activité enzymatique de l'ALAT (UI/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	107
<b>Figure 30</b> : Variation de l'activité enzymatique de l'ASAT (UI/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	107
<b>Figure 31</b> : Variation de l'activité enzymatique de la PAL (UI/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	108
<b>Figure 32</b> : Variation de l'activité enzymatique de la LDH (UI/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	108
<b>Figure 33</b> : Variation de la concentration sérique en bilirubine totale (mg/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	109
<b>Figure 34</b> : Variation de la concentration sérique en bilirubine directe (mg/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de	109

traitement	
<b>Figure 35</b> : Variation de la concentration sérique en lipides totaux (g/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	113
<b>Figure 36</b> : Variation de la concentration sérique en triglycérides (g/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	113
<b>Figure 37</b> : Variation de la concentration sérique du cholestérol (g/L) chez les rats témoins et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	114
<b>Figure 38</b> : Variation de taux du glutathion tissulaire (nM/mg prot) dans le foie des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	118
<b>Figure 39</b> : Variation de taux du glutathion tissulaire (nM/mg prot) dans les reins des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	118
<b>Figure 40</b> : Variation de taux du glutathion tissulaire (nM/mg prot) dans les testicules des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	119
<b>Figure 41</b> : Variation de taux du glutathion tissulaire (nM/mg prot) dans les intestins des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	119
<b>Figure 42</b> : Variation de taux du glutathion tissulaire (nM/mg prot) dans le cœur des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	120
<b>Figure 43</b> : Variation de taux du glutathion tissulaire (nM/mg prot) dans la rate des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	120
<b>Figure 44</b> : Variation de taux du MDA tissulaire (nM/mg de tissu) dans le foie des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	124
<b>Figure 45</b> : Variation de taux du MDA tissulaire (nM/mg de tissu) dans les reins des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	125
<b>Figure 46</b> : Variation de l'activité enzymatique de la GPx ( $\mu$ M GSH/mg prot) dans le foie des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	130
<b>Figure 47</b> : Variation de l'activité enzymatique de la GPx ( $\mu$ M GSH/mg prot) dans les reins des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	130
<b>Figure 48</b> : Variation de l'activité enzymatique de la GST (nM GSH-CDNB/min/mg prot) dans le foie des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ;	131

Cr*G) après 30 jours de traitement	
<b>Figure 49</b> : Variation de l'activité enzymatique de la GST (nM GSH-CDNB/min/mg prot) dans les reins des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	131
<b>Figure 50</b> : Variation de l'activité enzymatique de la CAT ( $\mu\text{M H}_2\text{O}_2$ /min/mg prot) dans le foie des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	132
<b>Figure 51</b> : Variation de l'activité enzymatique de la CAT ( $\mu\text{M H}_2\text{O}_2$ /min/mg prot) dans les reins des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr*G) après 30 jours de traitement	132
<b>Figure 52</b> : Coupes histologiques du foie des rats témoins (T [A]) et traités (G [B]; Cr [C, D] ; CrG [E] ; Cr*G [F]) après 30 jours de traitement	137
<b>Figure 53</b> : Coupes histologiques des reins des rats témoins (T [A]) et traités (G [B]; Cr [C, D] ; CrG [E] ; Cr*G [F]) après 30 jours de traitement	139

L'importance des antioxydants (gingembre) dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates

## RÉSUMÉS

## Résumé

Le chrome est un métal toxique impliqué dans plusieurs maladies humaines liées au stress oxydant. Cette étude a été axée sur l'examen de l'effet protecteur du gingembre contre la toxicité de ce métal. 50 rats mâles (*Albino wistar*) ont été divisés en cinq groupes de dix chacun: le lot (I) a servi de témoin, il a reçu de l'eau minérale *per os*; le lot (II) a reçu un régime expérimental contenant 2 % de gingembre; le lot (III) a reçu 15 mg/kg de dichromate de potassium ( $K_2Cr_2O_7$ ); le lot (IV) a reçu 15 mg/kg de  $K_2Cr_2O_7$  et 2 % de gingembre; le lot (V) a reçu 25 mg/kg de  $K_2Cr_2O_7$  et 2 % de gingembre, pendant 30 jours.

L'exposition des rats au chrome n'a pas affecté la croissance des rats malgré l'augmentation des rapports hépato- et réno-somatiques. Les résultats révèlent une altération de la fonction hématologique. Aussi, Le chrome a provoqué un désordre métabolique avec une augmentation des taux sériques des paramètres biochimiques (urée, créatinine, acide urique, cholestérol, triglycérides, lipides totaux, et la bilirubine totale et directe) et l'activité enzymatique des enzymes (ASAT, ALAT, LDH, PAL). L'effet pro-oxydant du chrome induit la déplétion du glutathion tissulaire (GSH) et l'augmentation du taux tissulaire de malondialdéhyde (MDA). Par ailleurs, une diminution de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx) et de la catalase (CAT) et augmentation de l'activité de la glutathion S-transférase (GST) ont été observées. La supplémentation du gingembre a restauré la fonction hépatique, rénale, hématologique et le profil lipidique. L'atténuation des paramètres du statut antioxydant est démontrée après l'association avec le gingembre. Les études histologiques ont confirmé les résultats biochimiques.

Nos résultats suggèrent que le gingembre peut réduire la toxicité induite par le chrome. La supplémentation du gingembre pourrait être une méthode simple, peu coûteuse et utile pour protéger quiconque exposé à Cr (VI) de ses effets toxiques aux lieux de travail.

**Mots clés** : Chrome, gingembre, glutathion, stress oxydant, toxicité.

## Abstract

Chromium is a toxic metal implicated in several human diseases associated with oxidative stress. This study was focused on investigating the possible protective effect of ginger against the toxicity of this metal. 50 male (*Albino wistar*) rats were divided into five groups of ten each: group (I) served as control, received mineral water *per os*; group (II) received an experimental diet containing 2 % of ginger powder; group (III) received  $K_2Cr_2O_7$  at 15 mg/kg; group (IV) received 15 mg/kg of  $K_2Cr_2O_7$  and 2 % ginger; group (V) received 25 mg/kg  $K_2Cr_2O_7$  and 2 % for 30 days.

Exposure of rats to chromium doesn't affected rats growth; however, liver and kidney relative weights were significantly increased. Results revealed also an alteration of hematological function. Also, the exposure of rats to  $K_2Cr_2O_7$  provoked metabolism disorders with a significant increase in: urea, creatinine, uric acid, cholesterol, triglyceride, total lipids, direct and total bilirubin serum levels and ASAT, ALAT, LDH, and PAL activities. The pro-oxidant effect of chromium is disclosed by depletion in tissue glutathione (GSH), and an increase of tissue malondialdéhyde (MDA) levels. Moreover, a decrease in glutathione peroxidase (GPx) and catalase (CAT) and increase in glutathione S-transferase (GST) activities were observed. Supplementation of ginger to the diet restored hepatic, renal, hematological and lipid markers to near-normal values. Attenuation of antioxidant status parameters was demonstrated after ginger association. The histological findings confirmed the biochemical results.

Our results suggest that ginger can reduce toxicity induced by  $K_2Cr_2O_7$ . Dietary supplementation of ginger could be an easy, inexpensive and useful method to protect whoever is exposed to Cr (VI) at workplace from its toxic effects.

**Key words:** Chromium, ginger, glutathione, oxidative stress, toxicity.



## المخلص

الكروم عبارة عن معدن سام يتسبب في العديد من الأمراض المرتبطة بالجهد التأكسدي التي تصيب الإنسان. تركزت هذه الدراسة على التحقيق في التأثير الوقائي المحتمل للزنجبيل ضد سمية ثاني كرومات البوتاسيوم ( $K_2Cr_2O_7$ ). تم تقسيم الفئران إلى 5 مجموعات في كل منها 10 فئران. المجموعة الأولى بقيت كشاهدة و تم معالجتها بالماء المعدني عن طريق الفم (*per os*) و تلقت نظام غذائي عادي. المجموعة الثانية تلقت نظام غذائي يحتوي على 2 % من مسحوق الزنجبيل. تلقت المجموعة الثالثة جرعة 15 ملغ/كغ من ثاني كرومات البوتاسيوم. تلقت المجموعة الرابعة 15 ملغ/كغ من ثاني كرومات البوتاسيوم و 2 % من الزنجبيل. أما المجموعة الخامسة فتلقت 25 ملغ/كغ من ثاني كرومات البوتاسيوم و 2 % من الزنجبيل لمدة 30 يوما.

تعرض الفئران إلى الكرومات لم يؤثر في معدل نموها بالرغم من وجود زيادة في الأوزان النسبية للكبد و الكلى. كما أظهرت النتائج تغييرا ملحوظا في الوظيفة الدموية. تعرض الفئران لثاني كرومات البوتاسيوم ( $K_2Cr_2O_7$ ) سبب اضطرابات أيضية مع زيادة في مستوى المؤشرات المصلية البيوكيميائية (اليوريا، الكرياتينين، الحمض اليوري، الجلوسريدات الثلاثية، الدهون الكلية، البيليريبيين الكلي و الحر) مع زيادة في نشاط الأنزيمات (ناقل أمين الأسبارتات، ناقل أمين الألانين، نازعة هيدروجين اللاكتات و الفوسفاتاز القاعدي). أدى تأثير الكرومات المدعم للأكسدة إلى انخفاض مستوى الجلوتاثيون (GSH) و زيادة مستوى المالونديالدهيد (MDA) النسيجية. زيادة على ذلك، لوحظ انخفاض في النشاط الأنزيمي للجلوتاثيون بيروكسيداز (GPx) و الكاتالاز (CAT) مع زيادة في نشاط الجلوتاثيون S-تروانسفيراز (GST). المزج بين ثاني كرومات البوتاسيوم و الزنجبيل أدى إلى استعادة المؤشرات الكبدية، الكلوية، الدموية و الدهونية إلى قيمها شبه الطبيعية. و يتضح جليا أن تخفيف حدة المؤشرات الحيوية للحالة المضادة للأكسدة تظهر بعد إضافة الزنجبيل. و الدراسة التشريحية تؤكد النتائج البيوكيميائية.

تشير نتائج هذه الدراسة إلى أن الزنجبيل يمكن أن يقلل من السمية الناجمة عن ثاني كرومات البوتاسيوم. المكملات الغذائية التي تحتوي على الزنجبيل يمكن أن تكون وسيلة سهلة، غير مكلفة ومفيدة لحماية أي شخص من الآثار السامة لهذه الكرومات خاصة في مكان العمل.

**الكلمات الدالة:** الكروم، السمية، الزنجبيل، الجلوتاثيون، الأكسدة.

## *Table des matières*

Introduction.....	1
-------------------	---

### *Partie bibliographique*

#### *Chapitre 1 : Le stress oxydant*

1. Le stress oxydant.....	4
1.1. Définition du stress oxydant.....	4
1.2. Les radicaux libres.....	5
1.2.1. Définition des radicaux libres.....	5
1.2.2. Différents types des ROS.....	6
1.2.3. Nature et sources des radicaux libres.....	7
1.3. Les antioxydants.....	8
1.3.1. Définition des antioxydants.....	8
1.3.2. Différents types d'antioxydants.....	9
1.3.2.1. Les antioxydants enzymatiques.....	9
1.3.2.2. Les antioxydants non enzymatiques.....	11
1.3.3. Mécanisme d'action des antioxydants.....	17
1.3.3.1. Mécanisme d'action des antioxydants piègeurs.....	17
1.3.3.2. Mécanisme d'action des antioxydants préventifs.....	18
1.4. Conséquences du stress oxydant.....	18
1.4.1. Oxydation des protéines.....	18
1.4.2. Peroxydation lipidique.....	20
1.4.3. Dommages de l'ADN.....	21
1.4.4. Maladies humaines liées au stress oxydant.....	22

#### *Chapitre 2 : Le chrome*

2. Le chrome.....	24
2.1. Généralités.....	24
2.2. Utilisation et sources des dérivés du chrome.....	25
2.2.1. Les sources naturelles.....	25
2.2.2. Les sources industrielles.....	27
2.3. Pollution aux chromates dans l'environnement.....	29
2.4. Cinétique des dérivés du chromate chez les être vivants .....	30
2.4.1. Absorption et distribution du chromate dans l'organisme .....	30
2.4.2. Métabolisme du chrome .....	33

2.4.3. Elimination du chrome.....	36
2.5. Les effets indésirables du chrome.....	36
2.6. Le chrome et le stress oxydant.....	38

### *Chapitre 3 : Le gingembre*

3. Le gingembre.....	40
3.1. Phytothérapie.....	40
3.2. L'histoire du gingembre .....	41
3.3. Description botanique du gingembre .....	41
3.4. Culture et production du gingembre .....	44
3.5. Préparation et consommation du gingembre .....	45
3.6. Etude des constituants du gingembre .....	45
3.7. Le gingembre dans la médecine traditionnelle .....	48
3.8. Propriétés pharmacologiques du gingembre .....	49
3.9. Propriété antioxydante du gingembre .....	51
3.10. Toxicité du gingembre .....	52

### *Partie pratique*

#### *Chapitre 1 : Matériel et méthodes*

1. Matériel et méthodes.....	53
1.1. Matériel.....	53
1.1.1. Matériel biologique.....	53
a. Matériel végétal.....	53
b. Matériel animal.....	53
1.1.2. Elevage des rats.....	53
1.1.3. Traitement des rats.....	54
1.1.4. Sacrifice et prélèvements des échantillons.....	55
1.1.4.1. Sacrifices des animaux.....	55
1.1.4.2. Prélèvement de certains organes.....	55
1.2. Méthodes de dosage.....	57
1.2.1. Mesure de la glycémie.....	57
1.2.2. Dosage des paramètres hématologiques.....	57
1.2.3. Dosage des paramètres biochimiques.....	58
1.2.3.1. Dosage de l'urée.....	58
1.2.3.2. Dosage de la créatinine.....	60
1.2.3.3. Dosage de l'acide urique.....	61

1.2.3.4. Dosage du cholestérol.....	63
1.2.3.5. Dosage des triglycérides.....	65
1.2.3.6. Dosage des lipides totaux.....	67
1.2.3.7. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT).....	68
1.2.3.8. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT).....	70
1.2.3.9. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL).....	71
1.2.3.10. Dosage de la lactate-déshydrogénase (LDH).....	72
1.2.3.11. Dosage de la bilirubine totale (TBIL) et directe (DBIL).....	74
1.2.4. Dosage des paramètres du stress oxydant.....	75
1.2.4.1. Dosage du glutathion (GSH).....	75
1.2.4.2. Dosage du malondialdéhyde (MDA).....	77
1.2.4.3. Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion- peroxydase (GPx).....	78
1.2.4.4. Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion-S-transférase (GST)...	80
1.2.4.5. Dosage de l'activité enzymatique du catalase (CAT).....	81
1.2.4.6. Dosage des protéines.....	83
1.2.5. Etude histologique.....	84
1.2.5.1. Fixation des échantillons.....	84
1.2.5.2. Déshydratation des échantillons.....	85
1.2.5.3. Inclusion des échantillons.....	85
1.2.5.4. Confection des coupes histologiques.....	86
1.2.5.5. Coloration.....	86
1.2.6. Analyse statistique des résultats.....	87

## *Chapitre 2 : Résultats et discussion*

2. Résultats et discussion.....	88
2.1. Influence du traitement sur le poids corporel des rats et les rapports organo- corporels.....	88
2.2. Influences du traitement sur les paramètres hématologiques.....	91
2.3. Influence du traitement sur les paramètres biochimiques.....	98
2.3.1. Influence du traitement sur la glycémie.....	98
2.3.2. Influence du traitement sur la fonction rénale.....	101
2.3.3. Influence du traitement sur la fonction hépatique.....	105
2.3.4. Influence du traitement sur le profile lipidique.....	111
2.4. Influence du traitement sur les paramètres du stress oxydant.....	116
2.4.1. Influence du traitement sur le glutathion tissulaire.....	116

2.4.2. Influence du traitement sur le malondialdéhyde.....	123
2.4.3. Influence du traitement sur l'activité des enzymes antioxydantes (GPx, GST et CAT).....	127
2.5. Influence du traitement sur l'histologie.....	136
a. Coupes histologiques hépatiques.....	136
b. Coupes histologiques rénales.....	138
Conclusion et perspectives.....	142
Références bibliographiques.....	145
Annexes.....	<i>i</i>

L'importance des antioxydants (gingembre) dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates

قال تعالى:

﴿وَيَسْقُونَ فِيهَا كَلًّا مَلَّا كَالهٖ مِزَاجَهَا زَبٖبًا﴾

{الإنسان/ 17}

L'importance des antioxydants (gingembre) dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates

# INTRODUCTION

### Introduction :

La toxicité des métaux et de leurs dérivés est connue depuis très longtemps. Si l'intoxication aiguë est devenue rarissime, les effets à long terme de petites doses longtemps répétées sont d'une actualité parfois brûlante (Poey et Philibert, 2000). Les effets neurophysiologiques, la néphrotoxicité, les effets sur la reproduction, la tératogénicité et la cancérogénicité demeurent au premier plan de la recherche concernant les effets, sur la santé, d'une exposition chronique aux métaux. L'intérêt pour les effets biologiques des métaux comme le mercure, le plomb, le chrome, le cobalt, l'arsenic ...etc. a augmenté au cours des dernières années car de grandes quantités de ces éléments toxiques ont été libérées dans l'environnement, en particulier dans les zones industrielles (Robson, 2003). Des investigations récentes sur les mécanismes sous-jacents des métaux suggèrent que le stress oxydant, résultant du déséquilibre de la production de radicaux libres et de la défense antioxydante cellulaire, joue un rôle important dans la toxicité cellulaire induite par ces métaux (Shi *et al.*, 2004).

Le chrome (Cr) est considéré comme un micronutriment essentiel pour les humains et les animaux. Presque toutes les sources du chrome dans la croûte terrestre sont issues de la forme trivalente (Cr (III)). L'état hexavalent (Cr (VI)) est commercialement disponible, il est plus toxique et cancérigène que le trivalent, car il pénètre facilement dans les cellules. Le Cr (VI) est plus soluble et absorbé de 3 à 5 fois mieux que la forme trivalente. De divers composés à base de chrome sont libérés par les industries dans l'environnement. Les travailleurs et les résidents de ces zones industrielles sont extrêmement exposés au Cr. L'exposition excessive au Cr (VI) peut provoquer une hépatotoxicité, une néphrotoxicité, et une cancérogénicité chez les humains et les animaux de laboratoire. Le Cr (VI)



intracellulaire est converti en Cr (III) qui est la forme la plus stable, produisant des espèces réactives de l'oxygène (Reactive Oxygen Species «ROS»), qui à leur tour provoquent un stress oxydant. La plupart des toxicités induites par le chrome comprend la peroxydation des lipides, les dommages de l'ADN, la cytotoxicité, la mutagénèse et la carcinogénèse (Chandra *et al.*, 2010).

Les antioxydants agissent comme un moyen de défense majeur contre la toxicité induite par les ROS, en protégeant la membrane cellulaire ainsi que les composés cytosoliques. La défense antioxydante comprend des antioxydants synthétiques et naturels ; d'origine exogènes ou endogènes, tels que les enzymes antioxydantes présentes dans toutes les cellules vivantes. Actuellement, il existe un fort intérêt à l'étude de composés naturels ayant une capacité de piégeage des radicaux libres (Kota *et al.*, 2008). Les antioxydants naturels sont faciles à accepter par les consommateurs car ils sont jugés sans danger. Les antioxydants de sources naturelles sont consommés régulièrement par l'homme et ils jouent un rôle important dans son régime alimentaire. Ils agissent comme piègeurs de radicaux libres, et inhibent la peroxydation lipidique et d'autres processus radicalaires, contribuant ainsi à protéger le corps humain de plusieurs maladies attribuées aux réactions des radicaux libres (Awe *et al.*, 2013).

Le gingembre (*Zingiber officinale*) a été utilisé comme épice pour plus de 2000 ans. Le rhizome de gingembre est connu pour sa contribution à la nourriture et dispose d'un potentiel antioxydant (Awe *et al.*, 2013). Aujourd'hui, les pharmacopées de différents pays utilisent l'extrait du gingembre pour de nombreuses applications thérapeutiques (Minaiyan *et al.*, 2006).

A la lumière de ces données, notre travail a pour objectif d'apporter des éclaircissements sur la toxicité du chrome d'une part, et de mettre en évidence l'effet protecteur du gingembre sur les effets cytotoxiques induits par ce métal chez des animaux d'expériences d'une autre part.

Notre travail sera réparti en deux sections, dont la première est une étude bibliographique. Dans son premier chapitre nous présenterons la notion du stress oxydant, les systèmes de défense antioxydante, et les cibles du stress oxydant. Nous aborderons dans le deuxième chapitre le chrome, son cinétique dans l'organisme et ces effets toxiques. Un dernier chapitre sera consacré à la description botanique du gingembre, son utilisation dans la médecine traditionnelle et ces propriétés biologiques. La deuxième section est la partie expérimentale, elle comporte deux parties, dans la première (matériel et méthodes) nous décrirons les méthodes utilisées dans ce travail et la préparation des échantillons. La deuxième partie exposera les résultats obtenus et la discussion à travers le dosage des paramètres biochimiques, hématologiques, histologiques ainsi que les enzymes antioxydantes et les biomarqueurs du stress oxydant.

L'importance des antioxydants (gingembre) dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates

**PARTIE**

**BIBLIOGRAPHIQUE**

L'importance des antioxydants (gingembre) dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates

## CHAPITRE 1

# LE STRESS OXYDANT

## 1. Le stress oxydant :

### 1.1. Définition du stress oxydant :

Les radicaux libres sont des molécules instables et fortement réactives (Suresh Kumar *et al.*, 2008), entraînant le stress oxydant, qui est défini comme un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants (Ratnam *et al.*, 2006). Il peut se produire en raison de la surproduction d'oxydants, la diminution de la défense antioxydante ou une combinaison de ces deux facteurs (Ece *et al.*, 2007) (figure 1). Les protéines ainsi que les lipides sont les cibles principales des ROS (Serdar *et al.*, 2006). Ces derniers causent la peroxydation lipidique, l'oxydation des protéines et les altérations de l'ADN (Deaton et Marlin, 2003), provoquant ainsi le développement du cancer, du diabète, des maladies neuro-dégénératives et des maladies cardio-vasculaires (Ratnam *et al.*, 2006). L'organisme humain a développé des systèmes de défense pour traiter ce phénomène (stress oxydant) et lutter contre les espèces réactives qui sont préjudiciables à la vie humaine (Prior et Cao, 1999 ; Laguerre *et al.*, 2007).

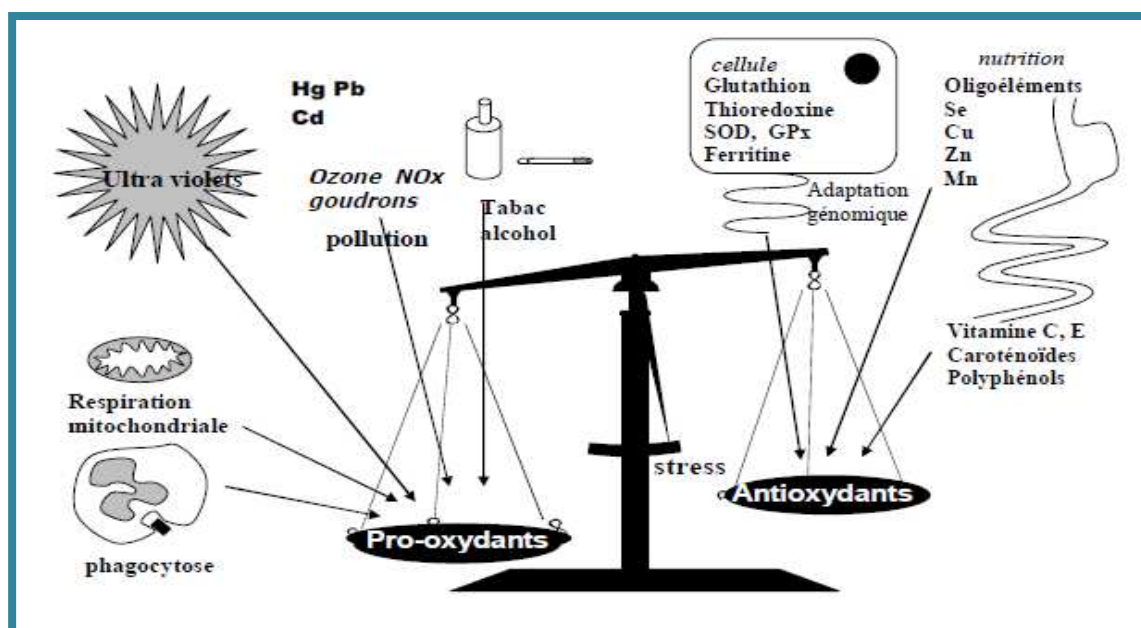


Figure 1: La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier, 2006)

## 1.2. Les radicaux libres :

### 1.2.1. Définition des radicaux libres :

En révisant la littérature, on remarque souvent un point symbolique à côté d'une abréviation chimique telle que ( $\bullet\text{OH}$ ), ce point signifie un radical libre (Scheibmeir *et al.*, 2005). La présence des radicaux libres dans les matières biologiques a été découverte à moins de 50 ans (Dröge, 2002). Un radical libre est tout atome (Gutteridge et Mitchell, 1999) ou molécule avec un ou plusieurs électrons non appariés sur l'orbite extérieure (Deaton et Marlin, 2003). Cette configuration instable crée de l'énergie qui est libérée par les réactions avec des molécules adjacentes, telles que les protéines, les lipides, les glucides et les acides nucléiques (Rahman, 2007), ce qui provoque leur inhibition et accélère leur

dégradation (Ratnam *et al.*, 2006). La réactivité des radicaux libres résulte de leur désir d'atteindre un électron d'un adverse directeur de spin (Deaton et Marlin, 2003).

### 1.2.2. Différents types des ROS :

Les ROS peuvent être divisés en deux catégories: les molécules d'oxygène qui ont un électron non apparié et les molécules d'oxygène qui sont dans un état excité. Le premier type comprend les radicaux d'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), les radicaux hydroxyles ( $OH^{\bullet}$ ), les radicaux peroxydes lipidiques ( $LOO^{\bullet}$ ), et les radicaux d'oxyde nitrique ou monoxyde d'azote ( $NO^{\bullet}$ ). Le deuxième type est l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) (Masaki, 2010). Les ROS les plus souvent formés sont le radical (anion) superoxyde et le radical hydroxyle. Le radical  $O_2^{\bullet-}$  est formé lorsqu'un électron est ajouté à une molécule d'oxygène, il est considéré comme le type le moins réactif des ROS et le radical le plus fréquemment produit dans l'organisme humain (Scheibmeir *et al.*, 2005). Il peut être produit à partir de l'oxygène moléculaire par divers types cellulaires via des systèmes enzymatiques (Ratnam *et al.*, 2006). Une fois produit, le  $O_2^{\bullet-}$  déclenche une cascade rapide des événements qui crée autres radicaux libres, éventuellement terminé par la formation de l' $H_2O$  (Gutteridge et Mitchell, 1999) (figure 2). Le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) est formé en tant que produit de dismutation de superoxyde (Ratnam *et al.*, 2006). Le  $H_2O_2$ , mais pas techniquement considéré comme un radical libre d'oxygène, est un membre de la famille des ROS et peut sélectivement participer à la génération des radicaux libres (Scheibmeir *et al.*, 2005). Les réactions de Fenton catalysées par les métaux de transition, comme le fer, ou les réactions d'Haber-Weiss, convertissent le  $H_2O_2$  en radical hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ) très fort (Ratnam *et al.*, 2006).

Le  $\text{OH}\cdot$  et ses radicaux subséquents sont les ROS les plus nocifs (Erel, 2004) et les plus réactifs des radicaux libres (Gutteridge et Mitchell, 1999).

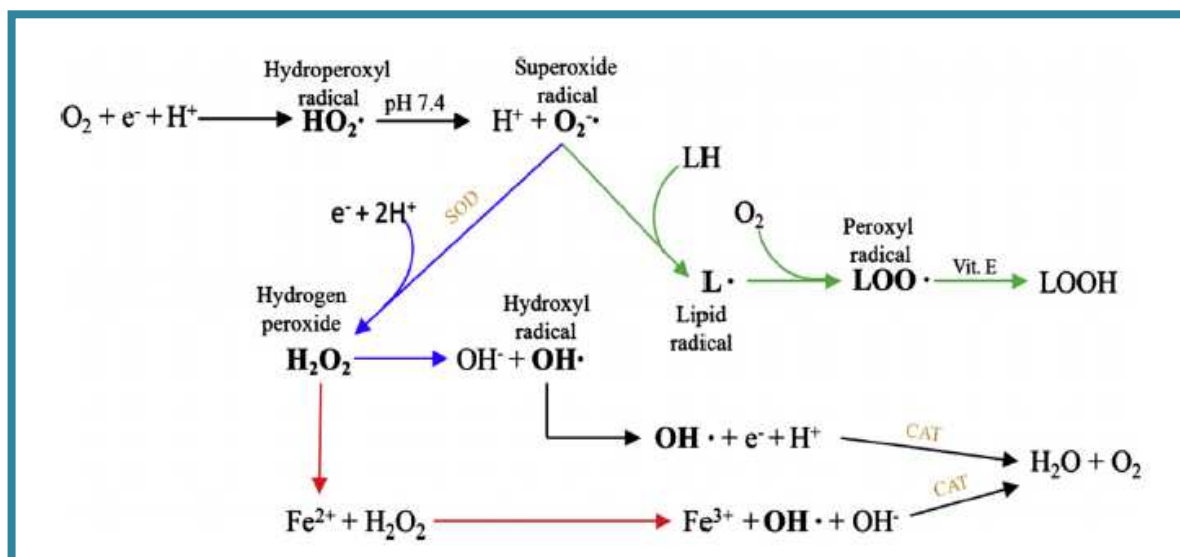


Figure 2 : Les principales réactions conduisant à la production des ROS (Carocho et Ferreira, 2013)

### 1.2.3. Nature et sources des radicaux libres :

Le radical libre le plus simple est un atome d'hydrogène avec un proton et un électron unique. Les radicaux libres peuvent également être des radicaux centrés d'oxygène, d'azote ou de carbone (Fusco *et al.*, 2007). Les radicaux qui endommagent les systèmes biologiques sont, en particulier, des radicaux libres d'oxygène, plus connus sous le nom de «Espèces Réactives de l'Oxygène» ou «ERO» (Reactive Oxygen Species, ROS). Ils sont les principaux sous-produits formés dans les cellules aérobies, et peuvent initier des réactions



autocatalytiques de sorte que les molécules auxquelles elles réagissent, elles-mêmes soient converties en radicaux libres pour propager la chaîne des dommages (Rahman, 2007).

La principale source des radicaux  $O_2\cdot$  et  $H_2O_2$ , pendant le métabolisme énergétique cellulaire, est la chaîne respiratoire (Daverman *et al.*, 2002). Les mitochondries ont été identifiées comme responsables de l'initiation de la plupart des réactions des radicaux libres se produisant dans les cellules (Fusco, 2007). Il y a également d'autres sources cellulaires des radicaux libres telles que l'enzyme xanthine oxydase (qui catalyse la réaction de l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique), le cytochrome P450, les peroxyosomes, les microsomes et les macrophages au cours de l'inflammation. Les ROS peuvent aussi être produits par une multitude de sources exogènes telles que les xénobiotiques, les composés chlorés, les agents environnementaux, les métaux (redox et non redox), les ions et les rayonnements (Rahman, 2007).

### 1.3. Les antioxydants :

#### 1.3.1. Définition des antioxydants :

Une nouvelle vieille définition tente de définir un antioxydant comme « toute substance qui, une fois présentée à une concentration faible en comparaison avec celle d'un substrat oxydé, considérablement retarde ou empêche l'oxydation du substrat ». Au fil des ans, cette définition est venue être reconnue comme "clairement imparfaite" (Medina-Navarro *et al.*, 2010), alors, un nouveau concept beaucoup plus général a défini un antioxydant comme "une substance qui retarde, empêche ou élimine les dommages oxydatifs à une molécule cible" (Gutteridge et Mitchell, 1999 ; Medina-Navarro *et al.*, 2010). Les

antioxydants peuvent empêcher ou retarder les processus d'oxydation causés par les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Heo *et al.*, 2007). Ils ont la capacité de contrecarrer les effets néfastes des radicaux libres dans les tissus, ils sont donc censés pour protéger contre le cancer, l'artériosclérose, les maladies cardiaques et plusieurs autres maladies (Bandyopadhyay *et al.*, 2007). Un antioxydant idéal devrait être aisément absorbé, susceptible d'éliminer les radicaux libres, et chélater les métaux redox à des niveaux physiologiquement appropriés (Rahman, 2007).

### 1.3.2. Différents types d'antioxydants :

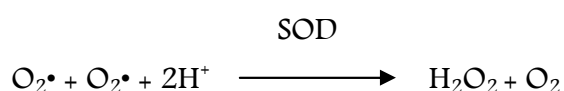
Les antioxydants peuvent être classés en deux groupes principaux: les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques. Certains de ces antioxydants sont d'origine endogène qui inclut les enzymes, les molécules de faible poids moléculaire et les cofacteurs d'enzymes. Parmi les antioxydants non-enzymatiques, un grand nombre provenant des sources alimentaires (Ratnam *et al.*, 2006).

#### 1.3.2.1. Les antioxydants enzymatiques :

✚ **La superoxyde dismutase (SOD)** : la superoxyde dismutase (EC. 1.15.1.1) est l'un des antioxydants enzymatiques intracellulaires les plus efficaces (Rahman, 2007), elle est répandue dans la nature dans les organismes eucaryotes et procaryotes (Ratnam *et al.*, 2006). Il existe trois types de SOD à savoir, la Cu/Zn-SOD cytosolique, la Mn-SOD mitochondriale et la Cu/Zn-SOD extracellulaire (Zelko *et al.*, 2002). Ces trois types diffèrent

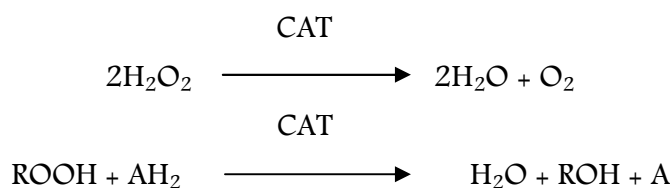
par la nature du métal du site actif, la composition en acides aminés, les cofacteurs et d'autres caractéristiques (Rahman, 2007). Chez l'homme, les plus hauts niveaux de la superoxyde dismutase se trouvent dans le foie, la glande surrénale, les reins et la rate (Scheibmeir *et al.*, 2005).

La SOD convertit le superoxyde en peroxyde d'hydrogène et oxygène moléculaire selon la réaction suivante (Matès *et al.*, 1999 ; Matès, 2000).



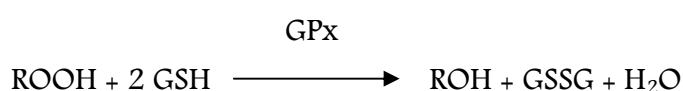
✚ **La catalase (CAT)** : la catalase (EC. 1.11.1.6) est parmi les antioxydants puissants les plus connus dans la nature (Ratnam *et al.*, 2006). Cette enzyme est localisée principalement dans les peroxysomes et les mitochondries (Deaton et Marlin, 2003), elle se produit en abondance dans le corps, avec la plus grande activité dans le foie, suivie par les érythrocytes, puis les poumons (Ratnam *et al.*, 2006). La catalase est composée de quatre sous unités protéiques, chacune contenant un groupement héminique avec le  $\text{Fe}^{3+}$  lié au site actif. Chaque molécule a habituellement une molécule de  $\text{NADPH}+\text{H}^+$  qui lui est liée, la protégeant ainsi d'une éventuelle inactivation par le peroxyde d'hydrogène (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2003).

La CAT réagit très efficacement avec le  $\text{H}_2\text{O}_2$ , pour former de l'eau et de l'oxygène moléculaire, et avec les donneurs d'hydrogène (méthanol, éthanol, acide formique ou phénol) (Matès *et al.*, 1999 ; Matès, 2000):



✚ **La glutathion peroxydase (GPx)** : la glutathion peroxydase (EC. 1.11.10.19) est une enzyme dépendante du sélénium (Akbas *et al.*, 2005). Elle contient un seul résidu séléno-cystéine (Se-Cys) dans chacune de ces quatre sous-unités identiques, ce qui est essentiel pour l'activité enzymatique (Marés *et al.*, 1999). Il existe plusieurs isoenzymes de la GPx trouvées chez les mammifères. Bien que leur expression soit ubiquitaire, les niveaux de chaque isoforme varient selon le type de tissu (Matés *et al.*, 1999 ; Matés, 2000). La GPx utilise le glutathion comme un donneur de proton ( $\text{H}^+$ ), et le GSH sera oxydé en glutathion oxydé (GSSG). La régénération du GSH est catalysée par la glutathion réductase (GR) (Serdar *et al.*, 2006).

La GPx catalyse la réduction d'une variété d'hydroperoxydes organiques (ROOH) ou inorganique ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), en utilisant le glutathion (Matés, 2000) :



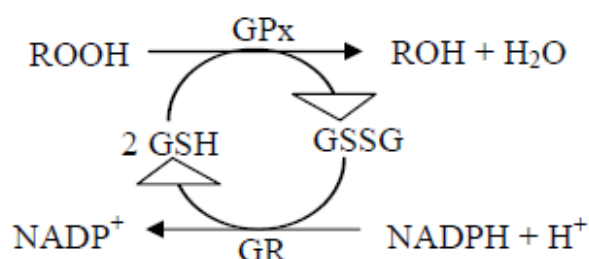
### 1.3.2.2. Les antioxydants non enzymatiques :

✚ **Le glutathion (GSH)** : dans des cellules vivantes, le plus abondant thiol de faible poids moléculaire est le glutathion (Sugiyama, 1992). Il est un antioxydant multifactoriel intracellulaire et il est considéré comme le majeur thiol disulfure représentant la solution

tampon du redox de la cellule (Rahman, 2007). Le GSH est synthétisé à partir de L-glutamate, L-cystéine, et la glycine. Le foie est la principale source de la synthèse du glutathion (Sies, 1999), il est également abondant dans le cytosol, les noyaux et les mitochondries. Il est le principal antioxydant soluble dans ces compartiments cellulaires (Rahman, 2007). Le groupement actif de glutathion est le sulfhydryle (-SH) de la cystéine (Sies, 1999 ; Deaton et Marlin, 2003) et qui peut aisément accommoder la perte de l'électron unique (Rahman, 2007).

Le glutathion disulfure ou oxydé (GSSG) est formé par l'oxydation de GSH (Sies, 1999), il est accumulé à l'intérieur de la cellule et le rapport de GSH/GSSG représente un bon indice du stress oxydant d'un organisme. Les rôles principaux de protection de glutathion contre le stress oxydant sont : il peut agir comme cofacteur de plusieurs enzymes de détoxification ; il participe dans le transport des acides aminés à travers la membrane plasmatique ; il piège les radicaux hydroxyles et l'oxygène singulet directement, et régénère les vitamines (C et E) à leurs formes actives (Rahman, 2007).

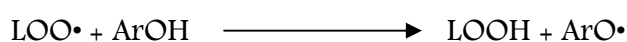
La glutathion peroxydase catalyse l'oxydation du glutathion dans laquelle deux molécules de glutathion sont reliées par leurs groupements sulfhydryles en formant un pont disulfure. Ce dernier est ensuite réduit par la glutathion réductase avec l'utilisation de  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  (Deaton et Marlin, 2003).



✚ **La vitamine E (Vit E)** : la vitamine E a été découverte en 1922 par Evans et Bishop comme un facteur alimentaire nécessaire pour la reproduction chez le rat (Traber et Atkinson, 2007). La vitamine E est un terme générique qui représente une famille de composés chimiquement apparentés qui est subdivisée en deux sous-groupes appelés tocophérols et tocotriénols. De plus, les tocophérols et les tocotriénols ont les formes  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ , nommées sur la base du nombre et la position des groupements méthyles dans le cycle chromanol (Palozza *et al.*, 2008 ; Masaki, 2010). La vit E est une vitamine liposoluble qui se trouve dans les membranes cellulaires et les lipoprotéines circulantes (Fusco, 2007).

Parmi les quatre tocophérols et les quatre tocotriénols trouvés dans les aliments, seulement l' $\alpha$ -tocophérol répond aux besoins humains en vitamine E (Traber et Atkinson, 2007). Cette dernière piège les radicaux peroxydes produits durant la peroxydation lipidique, ce qui conduit à un radical tocophérol (Van Stijn *et al.*, 2008).

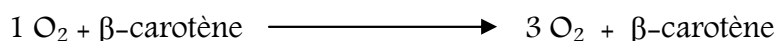
Les  $\alpha$ -tocophérols (ArOH) réagissent avec des radicaux peroxyde lipidiques formant un radical d'hydroperoxyde lipidique et un tocophéroxyde (ArO•), et empêchant la propagation de la peroxydation lipidique (Deaton et Marlin, 2003) :



✚ **La vitamine C (Vit C)** : la vit C ou l'acide ascorbique a été identifié comme un facteur antiscorbutique dans le traitement du scorbut en 1920 par Szent-Gyorgy et Glenn (Deaton et Marlin, 2003). Il s'agit d'un important et puissant antioxydant hydrosoluble qui ainsi fonctionne dans les milieux aqueux de l'organisme (Sugiyama 1992 ; Deaton et Marlin, 2003). Une vaste gamme de ROS (hydroxyles, radicaux peroxydes, anions

superoxydes, acides hypochloreux), les espèces réactives du nitrogène (peroxynitrite) et les radicaux dérivés des antioxydants (radicaux  $\alpha$ -tocophéroxyl et l'urate) sont éliminés par l'acide ascorbique (Deaton et Marlin, 2003). Ses principaux antioxydants partenaires sont la vitamine E et les caroténoïdes. La vit C peut également contribuer avec les enzymes antioxydantes (Rahman, 2007).

✚ **Les caroténoïdes** : les caroténoïdes sont des pigments organiques qui sont naturellement produits par les plantes, les algues, certains types de champignons et certaines bactéries (Masaki, 2010), mais pas les animaux (Rao et Rao, 2007) ; c'est-à-dire les animaux et les humains ne peuvent pas synthétiser les caroténoïdes *de novo* et dépendent de l'apport alimentaire (Stahl et Sies, 2005). Ils sont responsables de la couleur jaune, orange et rouge des fruits et des légumes (Rao et Rao, 2007), et ils sont des colorants importants dans les oiseaux, les insectes, les poissons et les crustacés (Stahl et Sies, 2005). Les caroténoïdes sont des antioxydants liposolubles (Fusco *et al.*, 2007), ils sont une source importante de la vitamine A (Rao et Rao, 2007). L'activité antioxydante est connue pour être l'une des propriétés biologiques les plus importantes des caroténoïdes (Polyakov *et al.*, 2006), elle résulte de la capacité de la double liaison conjuguée à délocaliser les électrons non appariés (Rahman, 2007 ; Van Stijn *et al.*, 2008). Les caroténoïdes sont des éboueurs éminents de l'oxygène singulet et des radicaux peroxydes (Deaton et Marlin, 2003). Il existe plusieurs membres dans le groupe des caroténoïdes, mais le caroténoïde le plus connu et étudié est le  $\beta$ -carotène, qui est un puissant antioxydant capable d'éteindre rapidement l'oxygène singulet (Fusco *et al.*, 2007) :



✚ **Les polyphénols** : quantitativement, les principaux antioxydants diététiques sont les polyphénols, leurs apports alimentaires journaliers sont d'environ 1 g (Pérez-Jiménez *et al.*, 2008). Ils sont un groupe de molécules chimiques produites par des plantes, caractérisées par la présence d'unités phénoliques dans leur structure moléculaire (Masaki, 2010). Les polyphénols comprennent une multitude de structures chimiques, à partir de molécules simples comme les acides phénoliques, aux composés hautement polymérisés, tels que les tannins condensés (Galleano *et al.*, 2010).

L'activité antioxydante des composés phénoliques est principalement attribuable à leurs propriétés redox, qui leur permettent d'agir comme agents réducteurs, des donneurs d'hydrogène et extincteurs (quenchers) de l'oxygène singulet. En outre, ils peuvent également posséder des propriétés de chélation métallique (Gülçin *et al.*, 2010). La famille la plus abondante de polyphénols présents dans l'alimentation humaine, est les flavonoïdes. Les flavonoïdes sont constitués de deux noyaux aromatiques, le phénol et la pyridine, reliés par trois atomes de carbone qui proviennent souvent d'un hétérocycle oxygéné (Galleano *et al.*, 2010).

Les effets protecteurs des flavonoïdes contenus dans le système biologique sont attribués à leur capacité à activer les enzymes antioxydantes, réduire les radicaux de l' $\alpha$ -tocophérol, inhiber les oxydases (Heim *et al.*, 2002), se lier à des molécules telles que les enzymes, les transporteurs d'hormones et l'ADN, chélater les ions métalliques de transition,



catalyser le transport des électrons, et piéger les radicaux libres, y compris des anions superoxydes (Lemańska *et al.*, 2001).

#### Les oligoéléments :

a) **Le sélénium** (Se) est un oligo-élément de numéro atomique 34 et de masse atomique 78,96 (Reilly, 2006). Son importance chez les mammifères a été découverte en 1957 (Navarro-Alarcón et López-Martínez, 2000). Schwarz et Foltzl démontrèrent son rôle essentiel chez l'animal en prévenant la dégénérescence nécrotique du foie par son apport dans l'alimentation (Ducros et Favier, 2004). Le sélénium a un grand nombre de fonctions biologiques dans l'organisme humain, l'action la plus importante et la plus connue est son effet antioxydant, car il constitue la sélénocystéine, qui est une partie du centre actif de l'enzyme glutathion peroxydase (Navarro-Alarcón et López-Martínez, 2000). Il a été démontré que dans toutes les enzymes, dites séléno-dépendantes, la sélénocystéine constitue le site actif (Césarini, 2004).

b) **Le zinc** (Zn) est un oligo-élément de numéro atomique 30 et de masse atomique 66,39 (Mader, 2010). Il est le deuxième oligo-élément le plus répandu dans le corps, il est impliqué dans la structure et la fonction de plus de 300 enzymes. Il est essentiel pour le fonctionnement et le métabolisme normaux des cellules. Les concentrations les plus élevées se trouvent dans la prostate, la rétine, les muscles, les os, le foie et les reins. Dans ces tissus le zinc n'est pas facilement mobilisé, et donc ne constitue pas un réservoir utile. Il fonctionne

comme un antioxydant complexe, il participe aux activités de chélation enzymatique (superoxyde dismutase), stabilise les membranes cellulaires et inhibe la peroxydation lipidique (Stehbens, 2003).

### 1.3.3. Mécanisme d'action des antioxydants.

Les antioxydants sont divisés en deux catégories en fonction de leur mécanisme d'action :

#### 1.3.3.1. Mécanisme d'action des antioxydants piègeurs :

Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau d'espèces réactives de l'oxygène. Certains composés antioxydants comme la vitamine E, la vitamine C ou les caroténoïdes et les polyphénols apportés par l'alimentation, agissent en piégeant les radicaux et en captant leur électron célibataire et en les transformant en molécules ou ions stables. Ce type d'antioxydant est appelé piègeur ou éboueur (scavenger ou chain breaking antioxidants). Il existe de plus, des composés endogènes synthétisés par les cellules et jouant le même rôle ; le plus important est le glutathion réduit qui protège non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le  $\text{NO}\cdot$  (Favier, 2003).

### 1.3.3.2. Mécanisme d'action des antioxydants préventifs :

Une autre stratégie utilisée dans la lutte contre le stress oxydant, elle est de nature enzymatique, visant à détruire les superoxydes et les peroxydes. Ainsi, les superoxydes dismutases sont capables d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de dismutation. Cette réaction est catalysée par un métal situé au cœur de l'enzyme. Les principales enzymes capables de détruire le peroxyde d'hydrogène sont les catalases à cofacteur fer et les glutathions peroxydases à cofacteur sélénium. Il existe de nombreuses autres enzymes antioxydantes comme les peroxyredoxines, l'hème oxygénase, la glutathion transférase, les thioredoxines réductases ou les thioredoxines peroxydases (Favier, 2003).

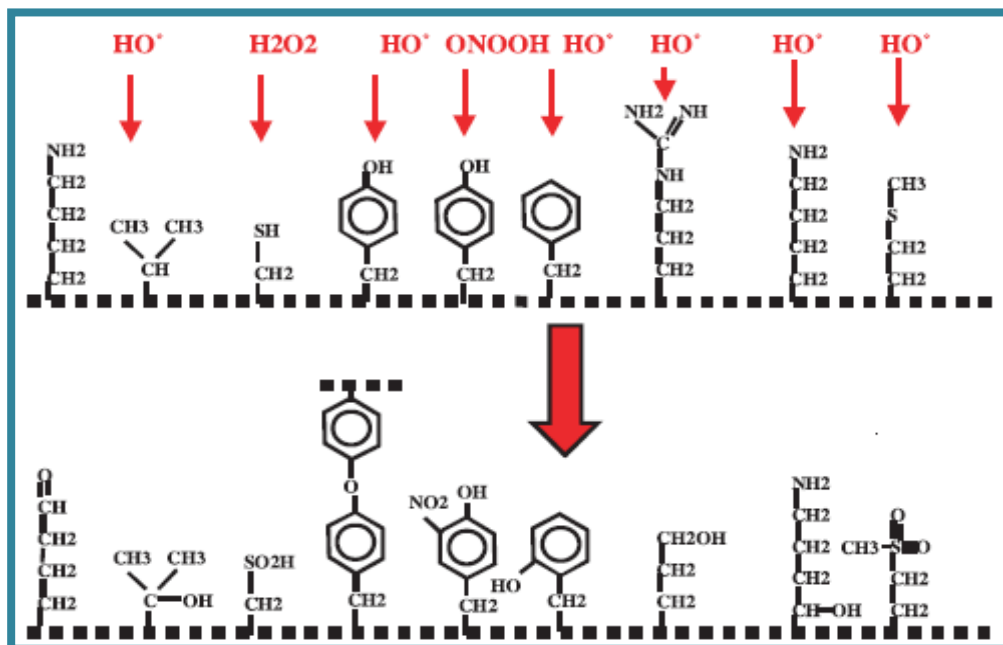
### 1.4. Conséquences du stress oxydant :

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

#### 1.4.1. Oxydation des protéines :

La toxicité des ROS s'exerce sur les protéines. Ces ROS sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Les plus sensibles à leur action sont les acides aminés aromatiques comme le tryptophane, la tyrosine et l'histidine, sur lesquels le radical  $\text{OH}\cdot$  s'additionne, modifiant la conformation de la protéine. Sur les acides aminés contenant un atome de soufre tels que la

cystéine et la méthionine, l'oxydation par les radicaux libres conduit à la formation de ponts disulfures, donc à l'agrégation de plusieurs molécules de protéines. Les ROS sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques. Par ailleurs, le radical  $\text{OH}\cdot$ , mais aussi l'anion superoxyde  $\text{O}_2\cdot^-$ , s'attaquent également aux protéines des tissus de soutien, comme le collagène du tissu conjonctif. L'oxydation de ces acides aminés conduit à une modification de la conformation spatiale et à une altération de la fonction protéique (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Les protéines oxydées perdent leur capacité à se fixer correctement sur un récepteur ou à fixer spécifiquement un ligand, altérant la signalisation cellulaire (Favier, 2003) (figure 3).



**Figure 3.** Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003)

### 1.4.2. Peroxydation lipidique :

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyde. Cette réaction appelée peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne car le radical peroxyde formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical diène conjugué. Le radical peroxyde, après évolution en un peroxyde cyclique et coupure de la molécule, peut libérer différentes aldéhydes toxiques dont le malonalaldéhyde (MDA) ou l'hydroxynonénal. Cette attaque des lipides peut concerner les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides membranaires. Les conséquences seront différentes : l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de lipoprotéines de densité légère (LDL) oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires ; l'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (Favier, 2003) (figure 4).

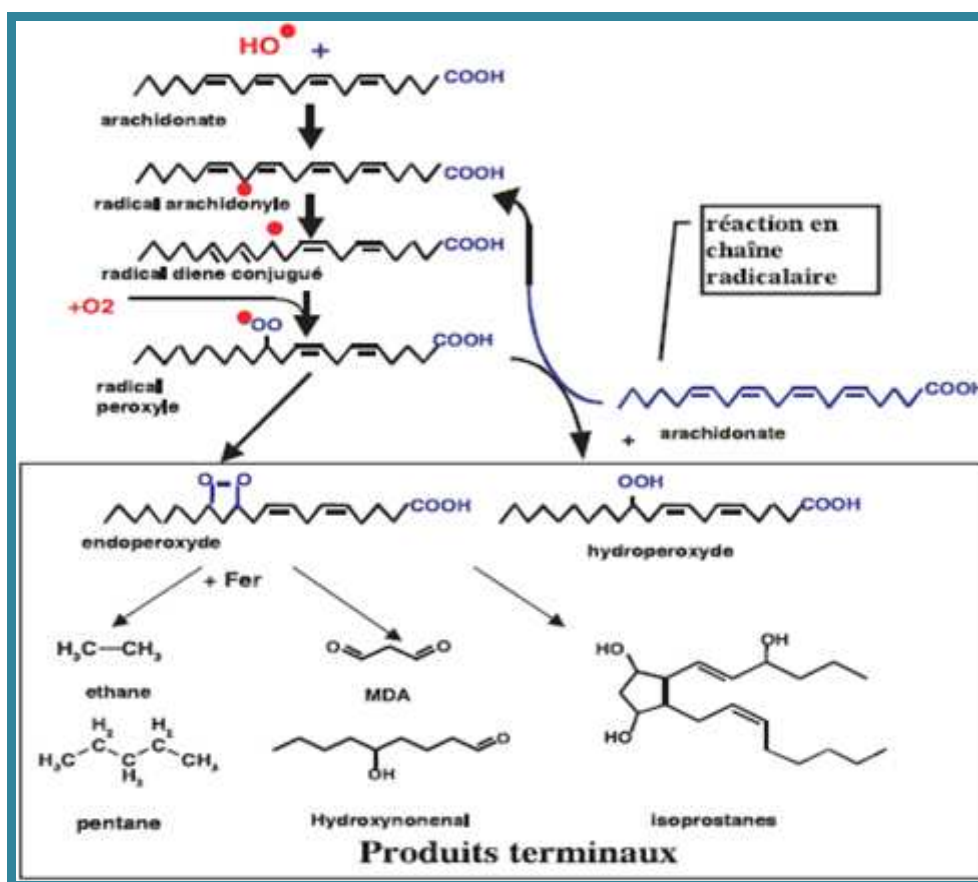


Figure 4 : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (Favier, 2003)

#### 1.4.3. Dommages de l'ADN :

L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des ROS. Les radicaux  $\text{O}_2^{\bullet-}$  et  $\text{OH}^\bullet$  provoquent des lésions de l'ADN. Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques. Ces altérations structurales lorsqu'elles ne sont réparées entraînent à long terme des altérations géniques : cassures chromosomiques, mutations, délétions,

et amplifications, à l'origine d'un dysfonctionnement au niveau du métabolisme protéique (Koechlin-Ramonatxo, 2006) (figure 5).

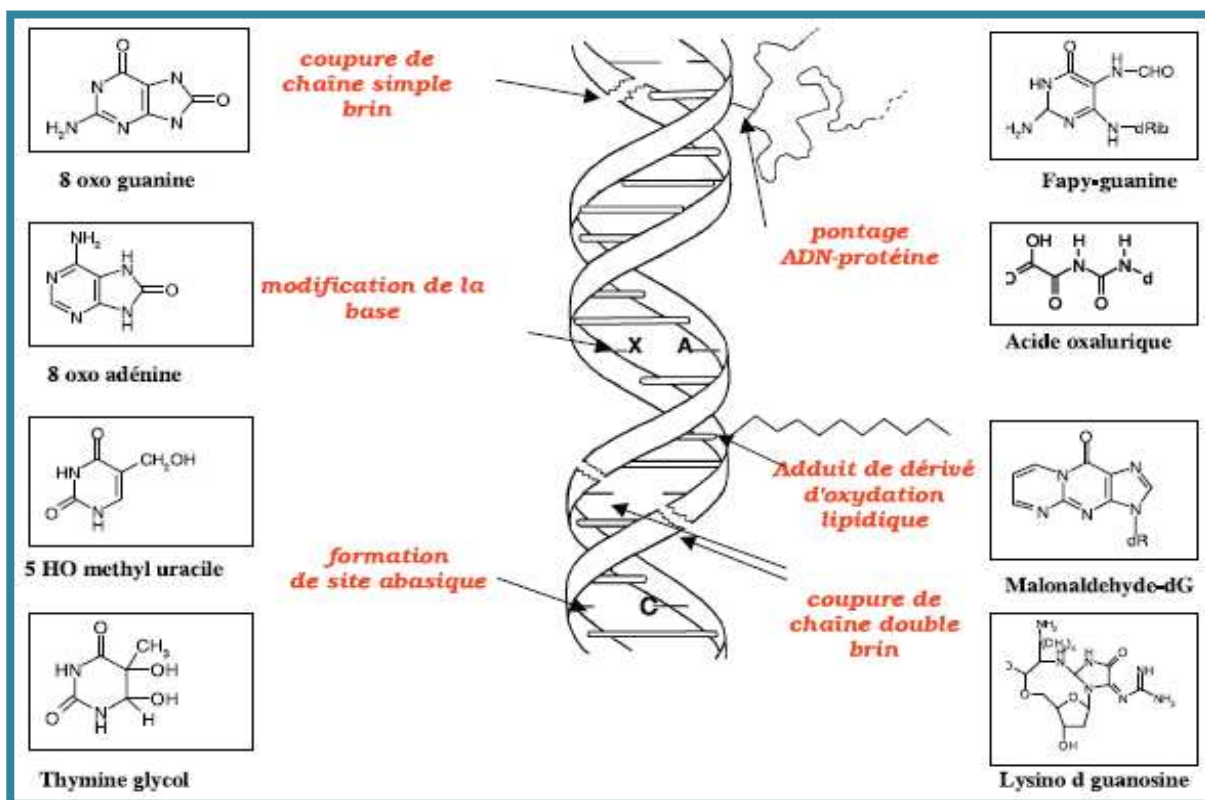


Figure 5 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (Favier, 2003)

#### 1.4.4. Maladies humaines liées au stress oxydant :

Le stress oxydant est comme l'inflammation un phénomène impliqué dans de très nombreuses maladies. La variété des conséquences médicales de ces stress ne doit pas nous surprendre car il sera, selon les maladies, localisé à un tissu et un type cellulaire particuliers, mettra en jeu des espèces radicalaires différentes et sera associé à d'autres facteurs

pathogènes et à des anomalies génétiques spécifiques d'un individu. Par la création de molécules biologiques chimiquement et irréversiblement anormales et la surexpression de certains gènes, le stress oxydant sera la cause initiale essentielle de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse pulmonaire aigu, oedème pulmonaire et vieillissement (Favier, 2006). Il est un des facteurs de la genèse de maladies plurifactorielles telle la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires. Dans de nombreuses autres situations pathologiques comme les diabètes ou les infections à VIH, mais sans caractère systématique, le stress oxydant résulte de troubles nutritionnels ou métaboliques secondaires à la pathologie initiale. Mais même dans le cas d'une maladie comme le sida, le stress oxydant induit est loin de n'être qu'un épiphénomène (Favier, 1997).



L'importance des antioxydants (gingembre) dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates

## CHAPITRE 2

### LE CHROME

## 2. Le chrome :

### 2.1. Généralités :

Le chrome a été découvert sous forme de crocoïtes en 1798 par le chimiste français, Vauquelin (Losi *et al.*, 1994). C'est un métal dur, d'une couleur blanc grisâtre. Son étymologie vient du grec « chroma » qui signifiait couleur, car les composés du chrome sont diversement colorés (Vaïopoulou et Gikas, 2012). Il est le 10<sup>ème</sup> élément le plus abondant dans le manteau terrestre (Huang *et al.*, 2009). Le chrome de symbole Cr, de numéro atomique 24 et de masse atomique 52 (Viala, 1998), appartient au groupe VI-b de la classification périodique des éléments (Cervantes *et al.*, 2004). Il appartient à la première série des éléments de transition (Acharya *et al.*, 2006) et il est un métal hautement toxique (Holland et Avery, 2009) avec des propriétés cancérogènes (Zhao *et al.*, 2010).

Cependant, Le chrome a une grande importance dans la physiologie humaine (Lilien *et al.*, 1970), il est un oligoélément essentiel pour les êtres humains et les animaux ; et impliqué dans le métabolisme glucidique et lipidique (Sugiyama, 1992). Le Cr se trouve couramment dans l'environnement sous trois formes principales, qui sont: le chrome (0), le chrome (III) et le chrome (VI). Le chrome (0) est le chrome métallique, un solide de couleur gris acier avec un point de fusion élevé, habituellement utilisé pour la fabrication d'acier et d'autres alliages. Les composés de chrome (III) et du chrome (VI) sont largement utilisés industriellement dans la production d'acier inoxydable, le soudage par électrodeposition (galvanoplastie), le tannage du cuir, la fabrication de colorants et de pigments de préservation du bois (Oliveira *et al.*, 2010).

Le Cr (VI) est toxique pour les humains, les animaux, les plantes et les micro-organismes, il est associé au développement de divers troubles de santé chroniques, y compris les dommages des organes, la dermatite et l'insuffisance respiratoire. D'autre part, le Cr (III) est relativement insoluble dans les systèmes aqueux, beaucoup moins toxique et même il est essentiel dans la nutrition humaine et animale (Xu *et al.*, 2005). Il joue un rôle clé dans l'homéostasie glucidique via un effet potentialisateur de l'insuline (Roussel, 2009).

## 2.2. Utilisation et sources des dérivés du chrome :

### 2.2.1. Les sources naturelles :

Le chrome est présent dans toutes les phases de l'environnement, y compris l'air, l'eau, le sol et pratiquement tous les biotes (tableau 1). Le Cr se classe au 21<sup>ème</sup> rang des éléments en abondance crustale. La concentration moyenne du Cr dans la croûte continentale a été rapportée à 125 mg/kg, avec un intervalle de 80-200 mg/kg couramment observé. Cependant, dans les sols dérivés de matériaux d'origine serpentinique, la teneur en Cr peut atteindre 125 g/kg ou plus. Les niveaux du Cr se diffèrent considérablement dans les différentes matières géologiques, avec une moyenne de 20 à 35 mg/kg dans la roche ignée granitique et 1800 mg/kg dans les roches ultramafiques (Losi *et al.*, 1994).

Les concentrations d'eau douce en Cr varient généralement de 0,1 à 117 µg/L tandis que les valeurs pour l'eau de mer s'échelonnent de 0.2 à 50 µg/L (Shanker *et al.*, 2005).

Les niveaux du chrome aussi varient largement dans l'atmosphère. Pacyna et Nriagu citent des études qui ont mesuré les concentrations de fond de  $5,0 \times 10^{-6}$  à  $1,2 \times 10^{-3}$  µg/m<sup>3</sup> dans les échantillons d'air des régions éloignées comme l'Antarctique, le Groenland et

l'Arctique norvégien. Ces niveaux sont considérés comme provenant des sources naturelles, telles que les poussières transportées par le vent et l'activité volcanique, et ils ont été estimés à avoir des flux de dépôt de  $50 \times 10^3$  et  $3,9 \times 10^3$  tonnes/an, respectivement. Par comparaison, la teneur en Cr dans les échantillons d'air recueillis sur des zones urbaines varie de 0,015 à  $0,03 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , allant encore plus élevée sur les zones avec des industries sidérurgiques (Losi *et al.*, 1994).

**Tableau 1** . Les concentrations du chrome dans l'environnement (Shanker et Venkateswarlu, 2011)

Type de l'échantillon	Concentration
Les sols naturels	5-3000 mg/kg
Les sols serpentiniques	634-125,000 mg/kg
Les sols mondiaux	100-300 mg/kg
Les sols en US	25-85 mg/kg (moyenne 37 mg/kg)
Les sols canadiens	100-5000 mg/kg (moyenne 43 mg/kg)
Les sols japonais	87 mg/kg (moyenne)
Les sols suédois	74 mg/kg (moyenne)
Les sédiments	0-31,0 mg/kg
L'eau douce	0-117 $\mu\text{g}/\text{L}$ (en moyenne 9,7 $\mu\text{g}/\text{L}$ )
L'eau de mer	0-0,5 $\mu\text{g}/\text{L}$
L'air	1-545,0 $\text{ng}\cdot\text{m}^3$
Les plantes	0,006-18 mg/kg
Les animaux	0,03-1,6 mg/kg

### 2.2.2. Les sources industrielles .

La production mondiale du chrome est de l'ordre de 103 tonnes par an dont 60-70 % sont utilisés dans les alliages et 15 % sont utilisés dans les procédés chimiques industriels (Cervantes *et al.*, 2004). Parce que la décharge anthropiques de Cr dans l'environnement résultant de l'utilisation industrielle, cette discussion se concentrera sur la production et les utilisations du chrome. Le chrome est extrait du minerai de chromite, qui a la formule  $[(Fe, Mg)O(Cr, Al, Fe)_2O_3]$ . Les plus grands gisements de chromite sont situés en Afrique du Sud, Russie, Philippines, sud du Zimbabwe, et Turquie (Losi *et al.*, 1994).

Les industries utilisant le chrome sont multiples, il est utilisé dans la fabrication des alliages et dans les traitements métalliques contre la corrosion et autres attaques oxydantes (Viala, 1998) (tableau 2). Il s'utilise aussi pour l'obtention d'ustensiles domestiques, de pièces automobiles, de briques réfractaires ...etc, les composés minéraux sont des agents de mordantage de textiles (Viala et Botta, 2005), outre la préservation du bois (Quinteros *et al.*, 2007, Kalayarasan *et al.*, 2008). Cet élément est également utilisé dans les industries agroalimentaires et chimiques où il sert de catalyseur dans les synthèses organiques, de pigments dans les peintures, dans les procédés de tannerie, et dans la production de films photographiques et de cassettes magnétiques (Viala, 1998). Le chrome existerait aussi à l'état de traces dans la fumée du tabac (Viala et Botta, 2005). Le chrome (VI) est la forme utilisée dans les industries précédentes, tandis que les sels du chrome (III), y compris le chlorure de chrome, le polynicotinate de chrome et le picolinate de chrome sont utilisés comme des micronutriments et des suppléments diététiques (Bagchi *et al.*, 2002).

Tableau 2 , Les utilisations industrielles de composés du chrome (Losi *et al.*, 1994)

Nom du composé	Formule	Utilisation
<b>Composés du Cr (VI)</b>		
Oxyde de chrome	$\text{Cr}_2\text{O}_3$	Diverses utilisations métallurgiques (production de ferro-alliages) utilisés dans la fabrication des aciers inoxydables et des alliages non ferreux ou de superalliages, tels que ceux utilisés dans les turboréacteurs
Chromate de baryum	$\text{BaCrO}_4$	Pyrotechnie, batteries à haute température
Chromate de cadmium	$\text{CdCrO}_4$	Catalyseurs, pigments
Dichromate de cadmium	$\text{CdCr}_2\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Finissage de métaux
Chromate de calcium	$\text{CaCrO}_4$	Inhibiteurs de corrosion, batteries à haute température
Dichromate de cuivre	$\text{CuCr}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Produits de préservation du bois, catalyseurs
Chromate de magnésium	$\text{MgCrO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Inhibiteurs de corrosion dans les turbines à gaz, matériaux réfractaires
Chromate de mercure	$\text{HgCrO}_4$	Elaboration des antifouling (antisalissure)
Dichromate de pyridine	$(\text{C}_3\text{H}_5\text{NH})_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	Photosensibilisateurs dans la photogravure, céramiques
Chromate de strontium	$\text{SrCrO}_4$	Pigments inhibiteurs de corrosion, additifs de placage
<b>Composés du Cr(III)</b>		
Acétate de chrome	$\text{Cr}(\text{OCOCH}_3)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$	Impression et teinture des textiles
Chlorure de chrome	$\text{CrCl}_3$	Production du chrome métal, composés organochrome
Chlorure de chrome hydraté	$\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Mordants, tannage, complexes de chrome

Fluoroborate de chrome	$\text{Cr}(\text{BF}_4)_3$	Chromage, catalyseurs
Naphténate de chrome	Non définie	Conservation des textiles
Phosphate de chrome	$\text{CrPO}_4$	Pigments, revêtements de phosphate
Chromite de cuivre	$\text{CuCr}_2\text{O}_4$	Catalyseurs, en particulier pour les gaz d'échappement des automobiles
Chromite de magnésium	$\text{MgCr}_2\text{O}_4$	Matériaux réfractaires

### 2.3. Pollution aux chromates dans l'environnement :

Comme tous les métaux, le Cr est non-biodégradable, persistant dans l'environnement (Quinteros *et al.*, 2007). L'intérêt pour les études biochimiques et toxicologiques sur le chrome est dû à son rôle potentiel en tant que polluant environnemental (Appenroth *et al.*, 1991). Ces dernières années, la contamination environnementale par le Cr, le Cr hexavalent en particulier, est devenue un axe majeur de concentration (Huang *et al.*, 2009). La forme la plus toxique du chrome dans est le chromate (chrome hexavalent Cr VI) (Pourahmad *et al.*, 2005). Le Cr (VI) est connu comme la forme de chrome la plus mobile dans le sol et les systèmes aquatiques (Kotaś et Stasicka, 2000). Les effluents industriels contiennent une forte concentration de chrome avec d'autres métaux (Tiwari *et al.*, 2009). Les niveaux élevés de Cr (VI) peuvent surmonter la capacité réductrice de l'environnement (Cervantes *et al.*, 2001) et ce qui crée un sérieux problème de la pollution des plans d'eau lentic (eau stagnante) et lotique (eau courante), des zones humides et des champs agricoles dans les zones adjacentes des complexes industriels (Tiwari *et al.*, 2009).

## 2.4. Cinétique des dérivés du chromate chez les être vivants :

### 2.4.1. Absorption et distribution du chromate dans l'organisme :

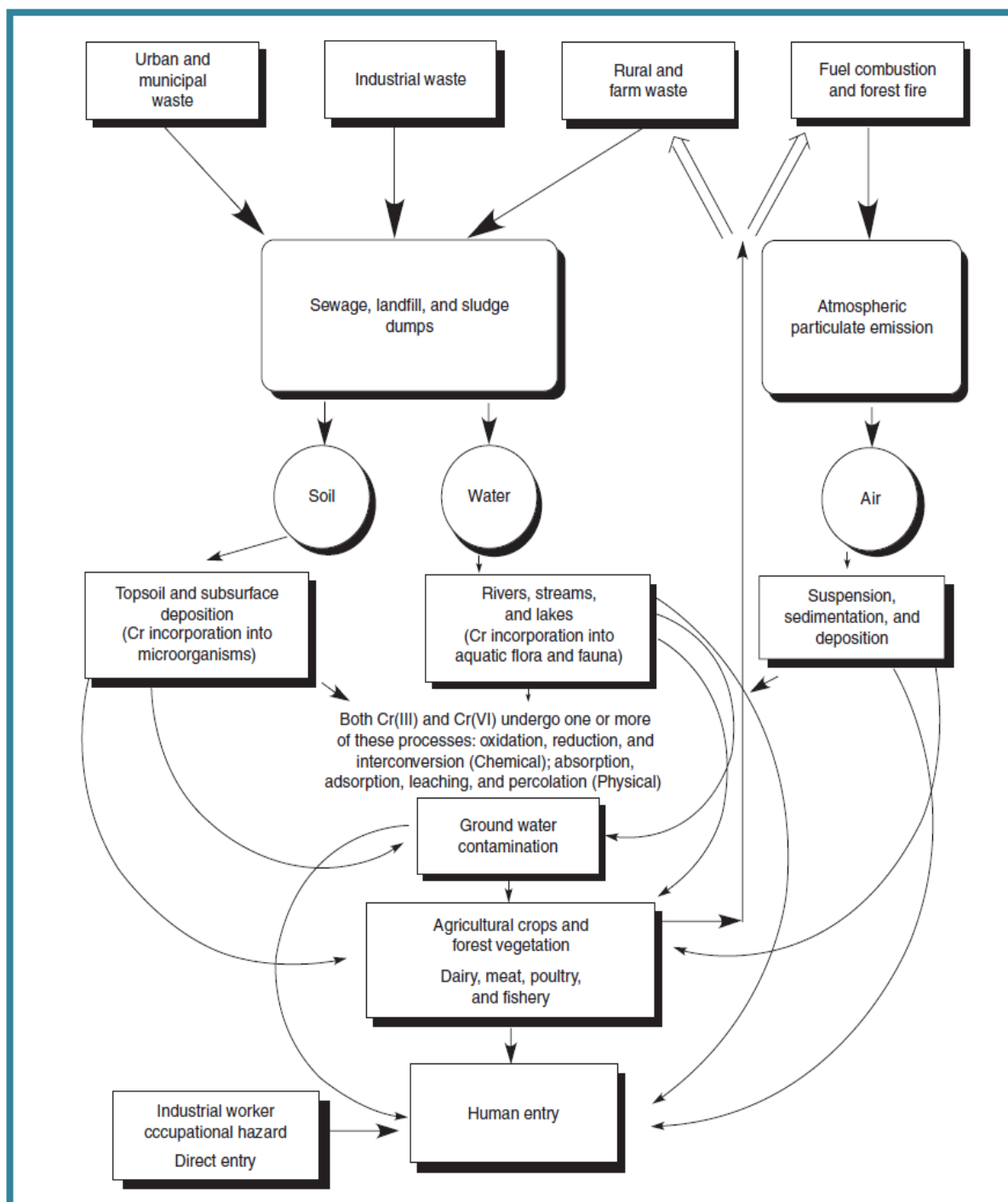
Le chrome existe sous différentes formes d'oxydation dont les plus répandues sont le chrome trivalent et le chrome hexavalent (Boloorchi *et al.*, 2007). Le Cr (VI) est considéré comme la forme la plus toxique du chrome, il pénètre facilement dans les membranes cellulaires (Matey *et al.*, 2000). Il est habituellement associé à l'oxygène comme : le chromate ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ) ou le dichromate ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ). Le chromate est activement transporté à travers les membranes biologiques tant dans les procaryotes que dans les eucaryotes (Cervantes *et al.*, 2004). L'absorption des dérivés hydrosolubles de Cr (VI) se fait par toutes les voies (Viala et Botta, 2005) (figure 6). Au pH physiologique, le chrome hexavalent existe comme un oxyanion, avec une charge globale de moins 2 électrons ayant emprunté de l'oxygène. Dans cette forme, le Cr (VI) ressemble à des oxyanions, tels que les sulfates et les phosphates, qui sont utilisés intensivement chez l'homme dans de nombreux processus biochimiques diverses. Les cellules individuelles de l'organisme doivent prendre le sulfate et le phosphate et avoir les systèmes actifs qui transportent ces substances nutritives. Toutefois, le chromate fait tromper le système d'absorption d'anion de la cellule en lui faisant croire que le Cr (VI) est le sulfate ou le phosphate, et les cellules transportent le chromate de l'extérieur vers l'intérieur. Ainsi, si le chromate est livré à n'importe quelle cellule dans le corps quelle que soit la voie d'exposition, il sera retenu dans la cellule (Costa, 2003). L'ion de chromate ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ), la forme dominante du chrome (VI) dans les solutions aqueuses neutres, peut donc facilement traverser les membranes cellulaires (Bagchi *et al.*, 2002), en utilisant un canal anionique non-spécifique, soi-disant le système perméase, qui transporte un



certain nombre d'anions avec une configuration tétraédrique et une charge négative, tels que  $\text{SO}_4^{2-}$  et  $\text{PO}_4^{2-}$  (Oliveira *et al.*, 2010), ainsi l'oxyanion chromate peut traverser les membranes cellulaires via le système de transport des anions sulfate et phosphate (Sugiyama, 1992 ; Quinteros *et al.*, 2007), parce que sa structure ressemble à celle du sulfate et du phosphate (figure 7) (Pourahmad *et al.*, 2005).

Le Cr (III) est la forme la plus stable et sa chimie est plus complexe que celle de Cr (VI) (Losi *et al.*, 1994). Cependant, le Cr (III) est un oligoélément essentiel, apporté en particulier par l'alimentation à raison de 50 à 200  $\mu\text{g}$  par jour (Viala et Biotta, 2005). Contrairement au chrome hexavalent, le chrome trivalent ne ressemble à aucun des nutriments biologiques et n'a pas la même façon d'entrer dans la cellule. Ce fait explique pourquoi la toxicité du Cr (III) est 500 à 1000 fois moins à une cellule vivante de celle de Cr (VI) (Costa, 2003). La plupart des cellules sont imperméables au chrome trivalent, probablement parce qu'il forme des composés insolubles dans l'eau et dans les solutions aqueuses non-acides (Cervantes *et al.*, 2001).

Le chrome peut entrer dans l'organisme humain par plusieurs voies (figure 6). En général, l'absorption des dérivés du chrome dépend de leur valence, de leur hydrosolubilité et quand la voie d'entrée est respiratoire, de la granulométrie des aérosols, ensuite il sera distribué dans tous les tissus. Les concentrations les plus élevées sont mesurées dans le foie, les reins et au niveau du site d'absorption (Bismuth *et al.*, 2000).



**Figure 6 .** Schéma illustrant les différentes voies d'entrée du chrome dans le corps humain (Shanker et venkateswarlu, 2011)

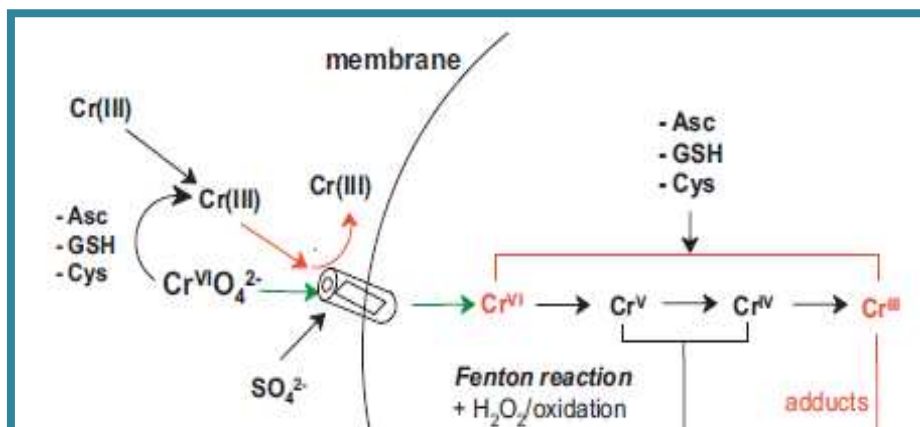
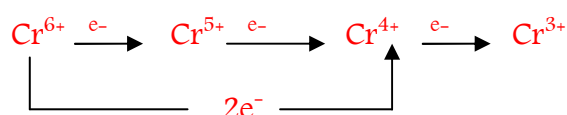


Figure 7 : Absorption et réduction du chrome au niveau de la cellule (Jomova et Valko, 2011)

#### 2.4.2. Métabolisme du chrome :

La toxicité du chrome dépend de l'état d'oxydation du chrome atome, avec le Cr (VI) étant nettement plus toxique que le Cr (III). L'un des facteurs censés contribuer à cette toxicité croissante est la plus grande capacité du chrome hexavalent à pénétrer dans les cellules, par rapport au chrome trivalent (Chou *et al.*, 2007). Une fois à l'intérieur de la cellule, le Cr (VI) est rapidement réduit en Cr (III) par dominants réducteurs cellulaires comme l'ascorbate, le glutathion et la cystéine, conduisant à une accumulation intracellulaire élevée de cet élément. Pendant le processus de réduction, d'autres espèces dans des états d'oxydation intermédiaires sont générées (Oliveira *et al.*, 2010), telles que le Cr (V) et le Cr (IV) qui sont soupçonnées de réagir avec l'ADN et causer des dommages de ce dernier (Kuo et Wu, 2002). La réduction du Cr (VI) dans les conditions physiologiques est illustrée par l'équation suivante :



En général, il ya deux voies pour la réduction du Cr (VI). Tout d'abord, une série de réductions d'un seul électron peut se produire, surtout aux niveaux relativement faibles de réducteurs, produisant des espèces intermédiaires (Cr (V) et Cr (IV)), et en fin de compte, le Cr (III). En revanche, lorsque les réducteurs intracellulaires sont présents en excès de plus de Cr (VI), la deuxième étape consiste à une réduction de deux électrons en Cr (IV), suivie d'une réduction d'un seul électron en Cr (III) (O'Brien *et al.*, 2003).

Le chrome (VI) se trouve dans la circulation où il est à 90 % lié aux globules rouges, et les 10 % restants sont libres dans le plasma (Bolorchi *et al.*, 2007). Dans la circulation, le chrome hexavalent est repris par les globules rouges et réduit à l'état trivalent, en se liant à la fraction globine de l'hémoglobine. Au niveau du parenchyme, l'absorption du chrome commence dans les premières 24 heures et se fait principalement par les reins, le foie, les os, les poumons et la rate. Le chrome est de plus lié aux protéines intracellulaires sous sa forme trivalente (Terrill et Gowar, 1990). La conversion du Cr (VI) en Cr (III) par les érythrocytes et également par la fraction microsomale des cellules hépatiques est un mécanisme très important pour l'inactivation du Cr (VI) par l'organisme (Baruthio, 1992).

Une grande diversité d'agents réducteurs intracellulaires a été proposée pour contribuer à la réduction du Cr (VI), y compris les mécanismes enzymatiques et non-enzymatiques. Les mécanismes non-enzymatiques impliquant des composés tels que l'ascorbate, les thiols non-protéiques (en particulier la cystéine et le glutathion) (Gunaratnam et Grant, 2001 ; Guttman *et al.*, 2008), le peroxyde d'hydrogène, l'alpha-

tocophérol et la riboflavine ont été proposés (Gunaratnam et Grant, 2001). Selon Gunaratnam et Grant, (2001) la réduction enzymatique a également été démontrée par la glutathion réductase et le NADPH cytochrome C. La contribution de ces voies enzymatiques et non enzymatiques peut varier dans les différentes cellules et les différents tissus du corps et aussi dans les différentes conditions physiopathologiques. Pendant le processus de réduction du Cr (VI), les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont également générées dans les réactions de Fenton et Haber-Weiss (Oliveira *et al.*, 2010), notamment l'anion superoxyde, l'oxygène singulet et les radicaux hydroxyles (Bagchi *et al.*, 2002).

Contrairement au chrome hexavalent, le chrome trivalent est un nutriment essentiel qui joue un rôle important dans le métabolisme du glucose, des protéines et des lipides en potentialisant l'action de l'insuline (Oliveira *et al.*, 2010), par augmentation du nombre de récepteurs de l'insuline, une modification de la liaison insuline/récepteur et une augmentation de l'internalisation de l'insuline (Roussel, 2009). Le rôle du Cr (III) dans le métabolisme du glucose a été souligné dès 1955 avec l'identification du facteur de tolérance au glucose (glucose tolerance factor: GTF), dont le principal constituant est le Cr (III) (Sreekanth *et al.*, 2008). La chromoduline, qui est un oligopeptide naturel, composé de la glycine, la cystéine, l'aspartate et le glutamate, peut se lier aux équivalents d'ions du chrome (Vincent, 2001). On croit que le dérivé du chrome trivalent a permis d'apporter des changements majeurs dans la conformation et l'agrégation de l'insuline, qui à leur tour pourraient avoir influencé l'activité de la protéine (Sreekanth *et al.*, 2008).

### 2.4.3. Elimination du chrome :

Après stockage, l'élimination du chrome est lente (Viala et Botta, 2005). Le rein est l'organe excrétoire principal du chrome (Appenroth *et al.*, 1991), c'est seulement le Cr (III) qui est éliminé dans les urines. La décroissance des concentrations plasmatiques est triphasique avec une demi-vie de 7 heures : 0,5 à 12 heures, 1 à 14 jours et 3 à 12 mois (Bismuth *et al.*, 2000).

### 2.5. Les effets indésirables du chrome :

Les humains peuvent être exposés à des niveaux élevés du chrome dans certaines situations et conditions professionnelles ou environnementales (Oliveira *et al.*, 2010). En milieu professionnel, les valeurs moyennes d'exposition (VEM) sont les suivantes : 0.5 mg/m<sup>3</sup> pour le métal lui-même, 0.05 mg/m<sup>3</sup> pour les composés du Cr (VI) et le trioxyde de dichromate. Les concentrations normales du chrome sont : < 0.2-2 µg/L pour le sang, et ≤ 5 µg/L/g de créatinine pour l'urine (Viala et Botta, 2005).

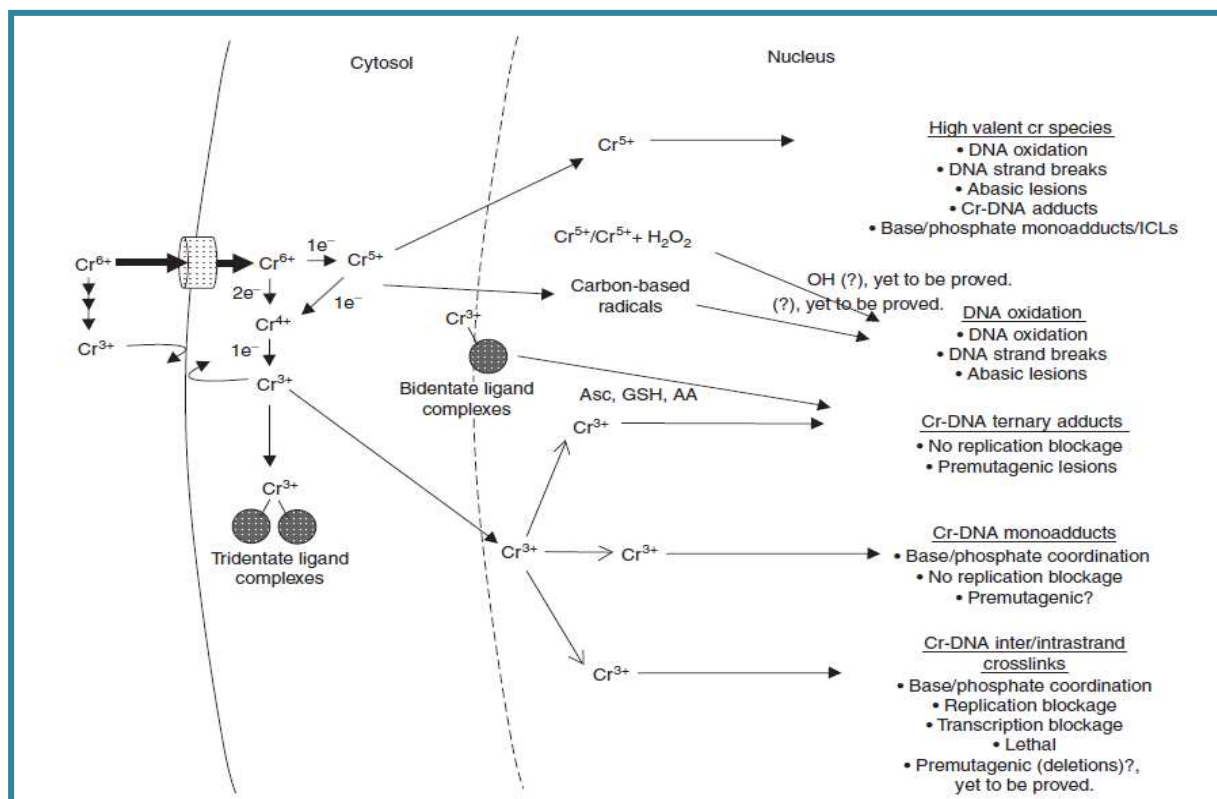
La toxicité intrinsèque du chrome varie considérablement en fonction de l'état de valence des dérivés concernés. Les formes du chrome (III) sont considérées comme peu toxiques, le chrome (III) est d'ailleurs reconnu comme un oligoélément essentiel (Viala, 1998). Mais si le Cr (III) entre dans la cellule, il sera très toxique (Costa, 2003) et exercera plus de dégâts à l'intérieur de la cellule (Holland et Avery, 2009). Il y a peu de données disponibles sur les effets des composés de Cr (III), ils sont considérés comme peu toxiques, leur toxicité est faible par rapport à celle des composés du Cr (VI), tels que l'acide

chromique, les chromates et les bichromates (Baruthio, 1992). Le Cr (VI) peut induire une toxicité aiguë et chronique :

- **Une intoxication aiguë** : elle est associée à une insuffisance rénale et hépatique, une hémorragie gastro-intestinale, des vomissements, une diarrhée, des troubles du système nerveux, une anémie et une coagulopathie (Terrill et Gowar, 1990). Les dommages de l'appareil gastro-intestinal peuvent être conduits à une absorption accrue du chrome. Les effets sur les systèmes respiratoire et cardio-vasculaire ne sont généralement pas observés à des doses non létales. Les effets gastro-intestinaux sont associés à des effets irritants ou corrosifs sur la muqueuse, à des doses élevées de Cr (VI) et comprennent les ulcères, les brûlures caustiques et l'hémorragie (Chou *et al.*, 2007).
- **Une intoxication chronique** : les intoxications chroniques par les composés du chrome (VI) sont celles observées aux lieux de travail par un contact direct avec la peau et les muqueuses et par l'inhalation de poussières ou d'aérosols. Certains composés du chrome sont responsables de plusieurs types de dermatoses. Le Cr (VI) est le second allergène après le nickel, il peut induire également une ulcération de la peau, un cancer des poumons, une fibrose pulmonaire, des bronchites chroniques, une inflammation et ulcération des muqueuses des lèvres, de la bouche et du pharynx. Il peut causer des lésions tubulaires et une irritation de la muqueuse à tous les niveaux du tube digestif, causant une pathologie digestive (Baruthio, 1992).

La cytotoxicité mécaniste de Cr (VI) n'est pas complètement élucidée, cependant, un grand nombre d'études ont démontré que le Cr (VI) induit un stress oxydant, des dommages

de l'ADN, une apoptose et une altération de l'expression génétique (Bagchi *et al.*, 2002) (figure 8).



**Figure 8 :** Les lésions génétiques induites par le chrome (O'Brien *et al.*, 2003 ; Shanker et Venkateswarlu, 2011)

## 2.6. Le chrome et le stress oxydant :

Le processus de réduction de Cr (VI) en Cr (III) par chélation n'est pas absolument sûr, parce que pendant ce processus de divers radicaux libres sont générés. Au cours de la réduction du Cr (VI), de nombreux radicaux libres notamment les espèces réactives de l'oxygène, tels que le radical hydroxyle, l'oxygène singulet, le radical superoxyde sont formés. Bien que beaucoup d'études aient impliqué l'exposition à Cr (VI) comme le facteur



de prédisposition à la toxicité, le Cr (VI) n'est pas lui-même l'espèce toxique. À l'intérieur des cellules, le Cr (VI) est rapidement réduit par une variété de réducteurs enzymatiques et chimiques, éventuellement en Cr (III), le prochain état stable d'oxydation. Les espèces du Cr (III) sont généralement insolubles et ne traversent pas facilement les membranes cellulaires (Myers, 2012). Tous les ROS, et en particulier les radicaux hydroxyles, sont responsables de la production du stress oxydant qui est soupçonné d'avoir joué un rôle important dans la cytotoxicité du chrome (Rudolf et Cervinka, 2006) (Figure 9).

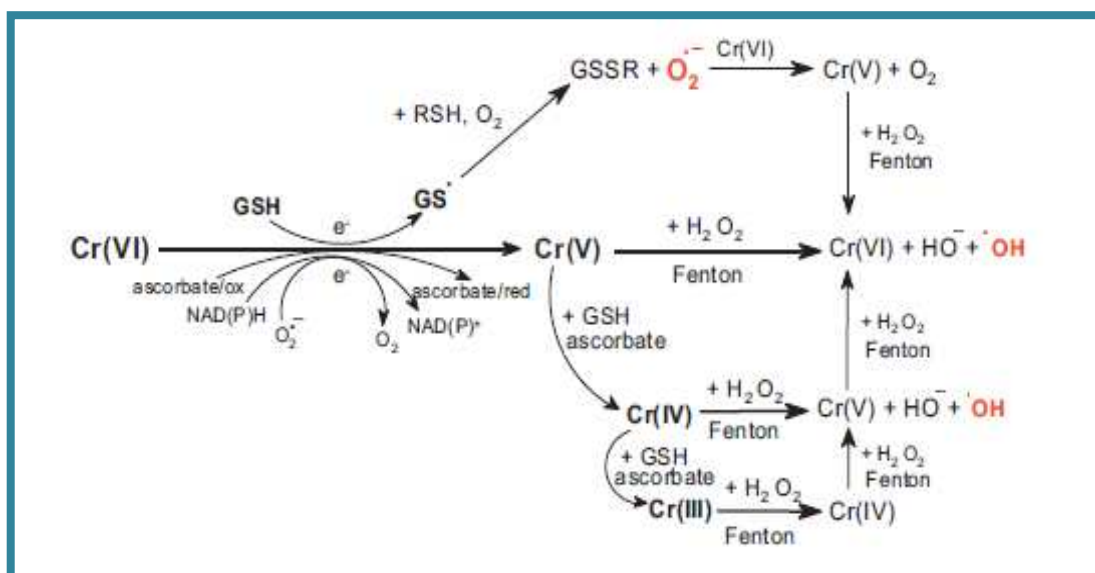


Figure 9 : Les réducteurs biologiques du Cr (VI) et ses réactions (Jomova et Valko, 2011)

L'importance des antioxydants (gingembre) dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates

## CHAPITRE 3

# LE GINGEMBRE

### 3. Le gingembre :

#### 3.1. Phytothérapie :

L'humanité n'a pas attendu la seconde moitié du XX<sup>e</sup> siècle pour se soigner. Depuis des millénaires, tous les peuples ont élaboré des médecines selon leur intelligence, leur génie, leur conception culturelle de la santé et de la maladie et les rapports qu'ils entretenaient avec leur environnement. L'utilisation des plantes médicinales à des fins thérapeutiques est une pratique aussi vieille que l'histoire de l'humanité. D'après les données archéologiques et anthropologiques, cette pratique remontrait à l'âge paléolithique moyen il y a quelque soixante mille ans. L'homme, poussé par sa curiosité, fut tenté de goûter à tout ce qui lui tombait sous la main, s'exposant ainsi à de cuisantes confrontations aux immenses pouvoirs de créatures végétales apparemment inoffensives. Au fil des siècles, apprenant à distinguer le comestible du mortel, à se servir des substances toxiques aux dépens de leurs ennemis, à reconnaître les vertus curatives cachées dans leur environnement naturel, nos ancêtres nous ont légué une longue chaîne de savoirs traditionnels dont l'ensemble constitue la médecine traditionnelle actuelle (Eddouks *et al.*, 2007). L'expression «médecine traditionnelle» se rapporte aux pratiques, méthodes, savoirs et croyances en matière de santé qui impliquent l'usage à des fins médicales de plantes, de parties d'animaux et de minéraux, de thérapies spirituelles, de techniques et d'exercices manuels, séparément ou en association, pour soigner, diagnostiquer et prévenir les maladies ou préserver la santé (Chaudhary *et al.*, 2010). Selon les estimations de l'organisation mondiale de la santé (OMS), plus de 80 % de la population mondiale, surtout dans les pays sous-développés, ont recours aux traitements traditionnels pour satisfaire leurs besoins en matière de santé et de soins primaires (Farnsworth *et al.*, 1985).

Malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne, les plantes médicinales trouvent encore leurs indications thérapeutiques dans le traitement d'une multitude d'affections et de maladies dans les différentes sociétés et cultures, y compris dans les pays développés (Eddouks *et al.*, 2007). Dans ces pays, les adaptations de la médecine traditionnelle sont appelées médecine parallèle, complémentaire, alternative ou non conventionnelle (Eisenberg *et al.*, 1993).

### 3.2. L'histoire du gingembre :

Le gingembre entrait déjà dans la composition des techniques de momification pratiquées dans l'Égypte antique. Cette plante condimentaire et médicinale depuis plus de 3000 ans est originaire de l'Inde. De là, le gingembre s'est ensuite rapidement répandu grâce à son commerce à partir de toute l'Asie du Sud-Est, jusqu'en Afrique de l'Ouest et aux Caraïbes. Cette épice orientale a probablement traversé la première fois la mer Méditerranée grâce aux Phéniciens pour gagner l'Europe durant l'Empire romain dès le 1<sup>er</sup> siècle (Gigon, 2012). Le gingembre est une des plus anciennes plantes connues par le peuple, et il est aussi l'une des premières épices orientales (Singh *et al.*, 2008). Plusieurs revues ont été publiées dans la littérature à propos de cette plante, ce qui peut refléter la popularité de son utilisation comme une épice et une plante médicinale (Ali *et al.*, 2008).

### 3.3. Description botanique du gingembre :

Le gingembre est une plante vivace tropicale herbacée, à port de roseau, qui mesure jusqu'à 3 m de haut (Favre *et al.*, 2006) (figure 10). La partie souterraine utilisée est le rhizome, celui-ci se divise dans un seul plan et il est constitué de tubercules globuleux

ramifiés (Gigon, 2012) (figure 11). Le rhizome est noueux et parfumé, peau beige pâle, chair jaune pâle juteuse et parfumée. Il devient de plus en plus fibreux avec l'âge, couvert de feuilles écailleuses et pourvu à sa partie inférieure de racines cylindriques. Ses feuilles sont persistantes bisériées, longues, étroites, lancéolées, pointues et longues de 20 cm. Elle possède deux sortes de tiges : tiges hautes stériles servant à l'assimilation chlorophyllienne et des tiges plus courtes (20 cm environ) portant des fleurs irrégulières en épi. L'inflorescence est en courts épis axillaires très serrés, à tige couverte d'écailles, entourée de spadice dense : grosses bractées vert jaune cireuses, superposées. Elle a des fleurs parfumées blanc jaune, avec des traînées rouges sur les lèvres. La floraison a lieu entre les mois d'août et novembre (formule florale :  $3S+3P+IE+3C$ ). Ses fruits sont des capsules trivalves contenant des graines noires (Faivre *et al.*, 2006). Le tableau 3 indique la classification botanique du gingembre :



Figure 10 : Zingiber officinale (Roscoe) (Gigon, 2012)



Figure 11 : Rhizome du gingembre (Gigon, 2012)

Tableau 3 . Classification botanique du gingembre (Faivre *et al.*, 2006 ; Gigon, 2012)

Nom français	Gingembre commun
Autres noms utilisés	épice blanche, ginger, jenjanb
Nom latin	Zingiber officinale (Roscoe)
Règne	Plantae
Sous-règne	Trachéobionta
Division	Angiospermes (ou Magnoliophyta)
Classe	Liliopsida (ou Monocotylédones=
Sous-classe	Zingibéridées
Ordre	Zingibérales (ou Scitaminales)
Famille	Zingibéracées
Sous-famille	Zingibéroïdées
Genre	Zingiber

### 3.4. Culture et production du gingembre :

Le gingembre est principalement cultivé en Inde et dans tout le Sud-est asiatique, notamment en Chine, en Indonésie et aux Philippines, mais aussi en Afrique tropicale (Nigeria). Sa répartition géographique concerne toute l'Asie, les Caraïbes, l'Afrique et le Brésil, mais plus de 50 % de sa production mondiale provient de l'Inde et de la Chine (Gigon, 2012). Le gingembre jamaïcain et indien est considéré comme le gingembre ayant une qualité supérieure (Charles, 2013) (tableau 4).

Tableau 4 : Les principaux pays producteurs du gingembre (Favre *et al.*, 2006)

Production en tonnes 2003-2004 Données de FAOSTAT (FAO)				
Payés	Production en 2003	% production Mondiale	Production en 2004	% production Mondiale
Inde	275 000	27 %	275 000	27 %
Chine	259 719	25 %	260 000	25 %
Indonésie	151 000	15 %	151 000	15 %
Nigeria	110 000	11 %	110 000	11 %
Népal	90 000	9 %	90 000	9 %
Bangladesh	43 000	4 %	48 000	5 %
Thaïlande	33 000	3 %	33 000	3 %
Philippines	30 000	3 %	30 000	3 %
Autres pays	39 259	3 %	39 270	3 %
Total	1 030 978	100 %	1 036 270	100 %

### 3.5. Préparation et consommation du gingembre :

Le gingembre frais est utilisé dans l'industrie agroalimentaire, la boulangerie ; notamment dans le pain d'épices et les biscuits, les confitures et les mélanges d'épices. Il est également un ingrédient dans certaines poudres de curry, marinades, sauces, chutneys et sirops. Le gingembre séché est largement utilisé pour les sauces et les soupes dans la cuisine asiatique. Les Chinois utilisent le gingembre frais, mariné et épicé, pour les saveurs sucrées, les soupes et les légumes. Le gingembre frais est indispensable à la cuisine asiatique et orientale, il est idéal pour les viandes, les poissons, le poulet, les compotes de fruits et les salades vertes. En Angleterre, il est utilisé en grandes quantités dans la production de soda au gingembre. Les Européens et les Nord-Américains préfèrent toujours les formes séchées, cristallisées, ou en conserve (Charles, 2013).

### 3.6. Etude des constituants du gingembre :

Des études phytochimiques innombrables ont montré que le rhizome du gingembre renferme une grande variété de composés biologiques actifs et que leur rapport et la concentration varient selon la saison, le lieu, la période de la récolte (Wilson *et al.*, 2013) et si les rhizomes sont frais ou secs (Ali *et al.*, 2008). Comme cela est le cas avec beaucoup d'autres préparations à base de plantes, les extraits du gingembre sont des mélanges complexes de constituants biologiquement actifs. Plus de 400 composés chimiques ont été isolés et identifiés dans les extraits de rhizome de gingembre et de nouveau le neuf sont toujours en train d'être détectés (Grzanna *et al.*, 2005). Les valeurs nutritionnelles du gingembre sont listées dans le tableau 5 ci-dessous :



Tableau 5 : Valeurs nutritionnelles du gingembre (Gigon, 2012)

Racine de gingembre, brut (Valeur nutritive pour 100 g)	
Énergie	20 kcal
Hydrates de carbone	17,77 g
– Sucres : 1,7 g	
– Fibres alimentaires : 2 g	
Graisses	0,75 g
Protéines	1,82 g
Vitamines (vit.) et minéraux	
Thiamine (vit. B1) : 0,025 mg	2 %
Riboflavine (vit. B2) : 0,034 mg	2 %
Niacine (vit. B3) : 0,075 mg	5 %
Acide pantothénique (vit. B5) : 0,203 mg	4 %
Pyridoxine (vit. B6) : 0,16 mg	12 %
Acide folique (vit. B9) : 11 µg	3 %
Vit. C : 5 mg	8 %
Calcium : 16 mg	2 %
Fer : 0,6 mg	5 %
Magnésium : 43 mg	12 %
Phosphore : 34 mg	5 %
Potassium : 415 mg	9 %
Zinc : 0,34 mg	3 %

Le rhizome, très riche en amidon (60 %), renferme des protéines, des graisses de types acides oléique et linoléique (10 %), de l'huile essentielle (à raison de 10 à 25 mL/kg de rhizome), un complexe oléorésineux (qui contient des composés non volatils et une enzyme, la zingibaine (Gigon, 2012).

L'odeur du gingembre dépend principalement de son huile volatile, dont le rendement varie de 1 % à 3 %. Plus de 50 composants de l'huile ont été caractérisés et ceux-ci sont principalement des composés monoterpéniques [ $\beta$ -phellandrène, (+)-camphène, cinéole, géraniol, curcumène, citral, terpinéol, bornéol] et sesquiterpéniques [ $\alpha$ -zingibérène (30-70 %),  $\beta$ -sesquiphellandrène (15-20 %),  $\beta$ -bisabolène (10-15 %), (E-E)- $\alpha$ -farnésène,  $\alpha$ -curcumène, zingibérol]. Certains des composés de l'huile sont convertis en composés moins âcre après dessiccation (Langner *et al.*, 1998 ; Evans, 2009).

L'âcreté du gingembre frais est due principalement aux gingérols, qui sont une série homologue de phénols dont le plus abondant est le [6]-gingérol. L'âcreté du gingembre sec résulte principalement de shogaols (Par exemple, le [6]-shogaol), qui sont des formes déshydratées des gingérols, les shogaols sont formées à partir du gingérol correspondant au cours du traitement thermique (Wohlmuth *et al.*, 2005), ou de stockage (Corrigan, 1997). Les gingérols sont une série d'homologues chimiques différenciés par la longueur de leur chaîne alkyle non ramifiée, [3-6]-, [8]-, [10]-, et [12]-gingérol, ayant une chaîne latérale avec 7-10, 12, 14, ou 16 atomes de carbone, respectivement (Wilson *et al.*, 2013) (figure 12). Certains appartiennent à la famille des vanilloïdes, ils sont accompagnés de gingédiols, de zingérones, de déhydro-zingérones, de paradols, de cétones et d'esters correspondants. Les constituants phytochimiques âcres et non-volatils du gingembre comprennent les composants biologiquement actifs, prédominés par le gingérol, le shogaol, le paradol et le zingérone (Gigon, 2012).

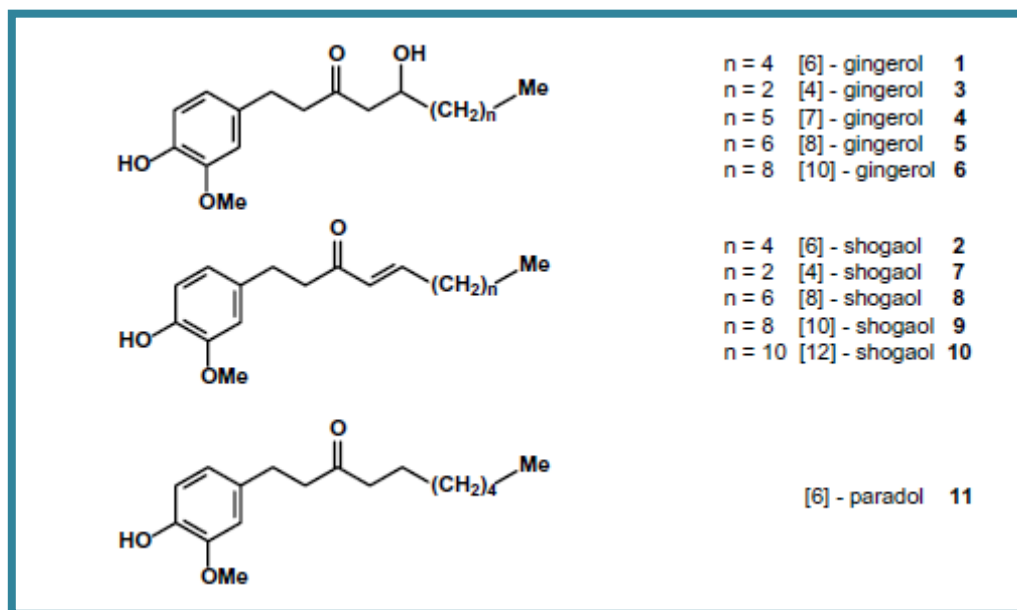


Figure 12 : Principaux constituants biologiques actifs du gingembre (Ali *et al.*, 2008)

### 3.7. Le gingembre dans la médecine traditionnelle .

Le gingembre est l'une des épices les plus fréquemment utilisés dans le monde entier, en particulier dans les pays d'Asie du Sud-est. Il est également une plante médicinale qui a été largement utilisée dans la médecine chinoise, ayurvédique et grecque (Rong *et al.*, 2009). Depuis l'Antiquité, le rhizome de gingembre a été utilisé dans les systèmes de la médecine alternative grecque, romaine, asiatique, indienne, sri-lankaise, tibétaine, méditerranée et arabe. Dans ces systèmes de médecine, le gingembre est utilisé pour traiter les rhumes, les maux de tête, les nausées, les troubles gastriques, la diarrhée, l'indigestion, l'arthrite, les affections rhumatismales et les douleurs musculaires. Il a été recommandé pour l'utilisation en tant que carminatif, diaphorétique, antispasmodique, expectorant, stimulant circulatoire, astringent, stimulant de l'appétit, anti-inflammatoire, diurétique et facilitant la digestion. Le

gingembre a une longue histoire d'utilisation dans l'Asie du Sud-est, sous forme séchée ou fraîche. Les chinois consomment le gingembre pour une grande variété de problèmes médicaux tels que : les maux d'estomac, la diarrhée, la nausée, le choléra, l'asthme, les maladies cardiaques, les troubles respiratoires, les maux de dents et les douleurs rhumatismales. En Inde, le gingembre a été utilisé comme médicament de la période védique et est appelé «maha aushadhi», qui signifie la grande médecine (Wilson *et al.*, 2013).

### 3.8. Propriétés pharmacologiques du gingembre :

De nombreuses propriétés pharmacologiques et cliniques ont été enregistrées pour cette plante dont le rhizome montre effectivement une activité médicamenteuse :

**Tableau 6** . Propriétés pharmacologiques du gingembre (Favre *et al.*, 2006)

<b>Activité au niveau gastrique</b>	<p>Stomachique par stimulation de la muqueuse gastrique.</p> <p>Augmente le flux salivaire.</p> <p>Activation de la protection cellulaire de l'épithélium gastrique par le zingibérène. Le gingembre inhibe les lésions de la muqueuse gastrique induites à l'alcool et au HCl respectivement à 97,5 % et 91,1 %. Une fraction contenant du zingibérène (0,06 %) et un autre contenant du 6-gingérol (0,09 %) ont la même action respectivement de l'ordre de 86 %, 1 % et de 92,3 %. Le zingibérène et le 6-gingérol isolés ne dépassent pas une inhibition de 55 %. De nombreuses études cliniques montreraient une activité sur le mal des transports (250 mg 2 h avant le départ), les états nauséux postopératoires et les vomissements de la grossesse (1 g par jour).</p>
<b>Action sur l'intestin</b>	<p>Augmente le tonus de la musculature intestinale et le péristaltisme carminatif, antispasmodique intestinal.</p>

	La poudre de gingembre (à la dose d'environ 2 g) augmente le flux salivaire.
<b>Action hépatobiliaire</b>	Biliosécréteur (6-gingérol) antiémétique. L'activité antiémétique serait due aux shogaols et gingérols par action sur les récepteurs D <sub>2</sub> et <sub>5</sub> HT. Les gingérols : cholagogues (en IP chez le rat), hépatoprotecteurs (intoxication par le CCL <sub>4</sub> ).
<b>Action antilipémique et anti-athéromateuse</b>	Abaissement du cholestérol sérique et hépatique et triglycéridémie (extrait aqueux). Il se pourrait que, grâce à l'extrait de gingembre, les esters de cholestérol de la plaque aortique athéromateuse soient transformés en cholestérol libre et soient transportés par l'HDL vers le foie où a lieu leur catabolisme. Dans le même temps, l'index d'athérogénécité passe de 4,7 à 1,2. Par ailleurs, le rapport cholestérol/phospholipide connu pour sa relation avec l'athérosclérose est réduit de 24,7 % par ce traitement.
<b>Action anti-inflammatoire</b>	l'extrait aqueux de racine de gingembre agit sur l'acide arachidonique et les PGH <sub>2</sub> <i>in vitro</i> . Inhibition de la biosynthèse des prostaglandines et leucotriènes (gingérol, diarylheptanoïdes). Les gingérols inhiberaient la synthèse des prostaglandines et des leucotriènes augmentant ainsi l'aspect antiulcéreux et anti-inflammatoire Le zingibérène fait preuve d'une activité antiulcéreuse équivalente à celle du misoprostol
<b>Action sur le sang</b>	Effet antipyrétique Action antiagrégant plaquettaire
<b>Action sur le cœur et les artères</b>	Gingérol et shogaol : abaissement de la pression artérielle. Effet cardiotonique par action inotrope positive chez le cobaye du 6-, 8- et 10-gingérol. Expérimentalement (surtout chez les rongeurs), l'oléorésine et en particulier l'époxyabdénédial inhibe la synthèse du cholestérol (à l'instar des statines) en inhibant une enzyme, la HMG CoA réductase agissant sur la synthèse des stérols par la voie

	des mévalonates.
<b>Action antibactérienne</b>	Antibactérien : salmonelles, staphylocoque doré, <i>Campylobacter jejuni</i> Actif <i>in vitro</i> sur les rhinovirus L'extrait aqueux est efficace contre le trichomonas
<b>Activité molluscide</b>	Les gingérols et les shogaols ont une activité molluscide en particulier sur les vecteurs de la bilharziose
<b>Activité anticancéreuse</b>	Le 6-zingérol et le zingérone ont une activité antimitotique en cultures cellulaires. L'extrait hydro-alcoolique de rhizome stimule la production des cytokines IL1 et IL6 et le GMCSF ou <i>Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor</i> ; impliqué dans l'hématopoïèse et l'activité des macrophages
<b>Activité en usage externe</b>	Rubéfiant, analgésique, action épilatoire de certains constituants de l'huile essentielle

### 3.9. Propriété antioxydante du gingembre :

Le gingembre contient jusqu'à 12 composés importants qui lui offrent une activité antioxydante 40 fois plus élevée que la vitamine E. Le gingembre a révélé avoir d'excellentes propriétés antioxydantes (Nair *et al.*, 1998 ; Rababah *et al.*, 2004 ; Chohan *et al.*, 2008 ; Shimoda *et al.*, 2010 ; Singh et Kaur 2012). Plusieurs travaux ont montré que le gingembre est doté d'une forte propriété antioxydante *in vitro* et *in vivo*. L'action antioxydante du gingembre a été proposée comme l'un des principaux mécanismes possibles pour les actions protectrices de la plante contre la toxicité et les rayonnements (Jagetia *et al.*, 2003 ; Haksar *et al.*, 2006), un certain nombre d'agents toxiques, tel que le tétrachlorure de carbone et le cisplatine (Amin et Hamza, 2006 ; Yemitan et Izegbu, 2006), et comme un médicament antiulcéreux (Siddaraju et Dharmesh, 2007). Récemment, il a été démontré que le [6]-

gingérol possède une action antioxydante puissante à la fois *in vivo* et *in vitro*, en plus des actions anti-inflammatoires et anti-apoptotiques fortes (Kim *et al.*, 2007). Aussi, Il a été découvert que le [6]-shogaol possède une activité antioxydante et des propriétés anti-inflammatoires plus puissantes que le [6]-gingérol, aussi, le [10]-gingérol est le plus puissant parmi tous les gingérols (Dugasani *et al.*, 2010). Il est donc un agent très efficace pour la prévention contre les ROS induits par l'ultra violet, et aussi un agent thérapeutique possible contre les affections de la peau induites par ces rayonnements (Ali *et al.*, 2008).

### 3.10. Toxicité du gingembre :

Le gingembre est généralement considéré comme une plante médicinale sans danger (Rong *et al.*, 2009). La littérature scientifique abondante sur le gingembre ne met pas en évidence de toxicité particulière concernant cette plante. Les précautions d'emploi résident, comme d'habitude, dans la prévention des risques encourus par l'emploi de l'huile essentielle concentrant des principes aromatiques par hydrodistillation, comme les carbures mono- et sesquiterpéniques (Gigon, 2012).

L'importance des antioxydants (gingembre) dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates

**PARTIE**

**PRACTIQUE**



L'importance des antioxydants (gingembre) dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates

## CHAPITRE 1

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

## 1. Matériel et méthodes :

### 1.1 Matériel :

#### 1.1.1. Matériel biologique :

**a. Matériel végétal :** les rhizomes de gingembre ont été achetés du marché local, plusieurs fois lavés, épluchés à l'aide d'un économe, râpés sur une grille à râper ordinaire, séchés à l'air et pulvérisés avec un mixeur jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. La poudre du gingembre est conservée à la température ambiante dans des contenants hermétiques à l'abri de la lumière vive jusqu'à le début de l'expérimentation.

**b. Matériel animal :** notre étude expérimentale a été réalisée sur des rats mâles blancs (*Albinos wistar*). Ce sont des mammifères nocturnes de l'ordre de rongeurs fréquemment utilisés dans les recherches. La puberté survient entre cinquantième et le soixantième jour après la naissance. En fonction des conditions environnementales, un rat en bonne santé peut vivre de deux et demis à trois ans.

#### 1.1.2. Elevage des rats :

Nous avons utilisé cinquante (50) rats provenant de l'institut Pasteur d'Alger, âgés de huit semaines avec un poids de  $200 \pm 10$  g. Les animaux sont élevés au sein de l'animalerie de l'université Badji Mokhtar - Annaba. Ils ont été soumis à une période d'adaptation aux conditions de l'animalerie, un mois d'environ à une température de  $21 \pm 1$  °C, une hygrométrie de  $55 \pm 5$  % et une photopériode de 12 h/12 h. Les rats sont logés dans des cages en polyéthylène, tapissés d'une litière composée de copeaux de bois. Les cages ont été

nettoyés et la litière changée une fois tous les deux jours. Les animaux ont été nourris par un régime alimentaire dont nous avons préparé selon Upreti *et al.* (1989) (tableau 7), l'eau de boisson est servie dans des biberons *ad libitum*, et renouvelée quotidiennement.

**Tableau 7** : Composition du régime alimentaire pour un 1 kg d'aliment (Upreti *et al.*, 1989)

Matière primaire	Quantité en g/kg	Pourcentage (%)
Amidon (maïs)	420	42
Saccharose	210	21
Soja	260	26
CMV	30	3
Huile	20	2
Son	60	6

### 1.1.3. Traitement des rats :

Après la période d'adaptation (20 jours), les rats ont été répartis au hasard en cinq groupes de dix rats chacun, les rats ont été traités pendant trente jours comme suit :

- 🚩 Groupe 1 (T) : le groupe témoin a reçu l'eau de robinet par gavage (*per os*).
- 🚩 Groupe 2 (G) : les rats ont été nourris par un régime alimentaire contenant 2 % de gingembre en poudre.
- 🚩 Groupe 3 (Cr) : les rats ont été traités par le dichromate de potassium dissout dans l'eau minérale *per os* à raison de 15 mg/kg du poids corporel.
- 🚩 Groupe 4 (CrG) : les rats ont été traité par le dichromate de potassium (15 mg/kg) et ont été nourris par un régime alimentaire qui contient 2 % de poudre de gingembre.

- ✚ Groupe 5 (Cr\*G) : les rats ont reçu le dichromate de potassium à raison de 25 mg/kg du poids corporel, et le régime alimentaire a contenu 2 % de poudre de gingembre.

**NB** : Cette durée a été évoquée de la littérature ainsi que les deux doses de dichromate de potassium et la quantité de la poudre de gingembre.

#### 1.1.4. Sacrifice et prélèvements des échantillons :

##### 1.1.4.1. Sacrifices des animaux :

A la fin de la période du traitement, les rats sont mis à jeun pendant une nuit. Ils sont sacrifiés le matin par décapitation, la glycémie a été mesurée et le sang a été immédiatement recueilli dans deux tubes différents :

- ✚ L'un à EDTA : destiné au dosage des paramètres hématologiques ou formule de numération sanguine (FNS).
- ✚ L'autre sec : a subi une centrifugation à 5000 tours/min pendant 15 minutes, ensuite le sérum résultant est récupéré puis placé à -20 °C, il est destiné au dosage des paramètres biochimiques.

##### 1.1.4.2. Prélèvement de certains organes :

Après la dissection, le foie, les reins, les testicules, le cœur, la rate, et une partie des intestins ont été prélevés et débarrassés de leurs tissus adipeux puis pesés. Une partie du foie, un rein, les testicules, le cœur, la rate et les intestins ont été stockés au congélateur à -20 °C pour le dosage des paramètres de stress oxydant. Le reste du foie et le 2<sup>ème</sup> rein ont été fixés

dans le Bouin alcoolique pour effectuer les coupes histologiques. La figure 13 résume les différentes étapes du protocole expérimental.

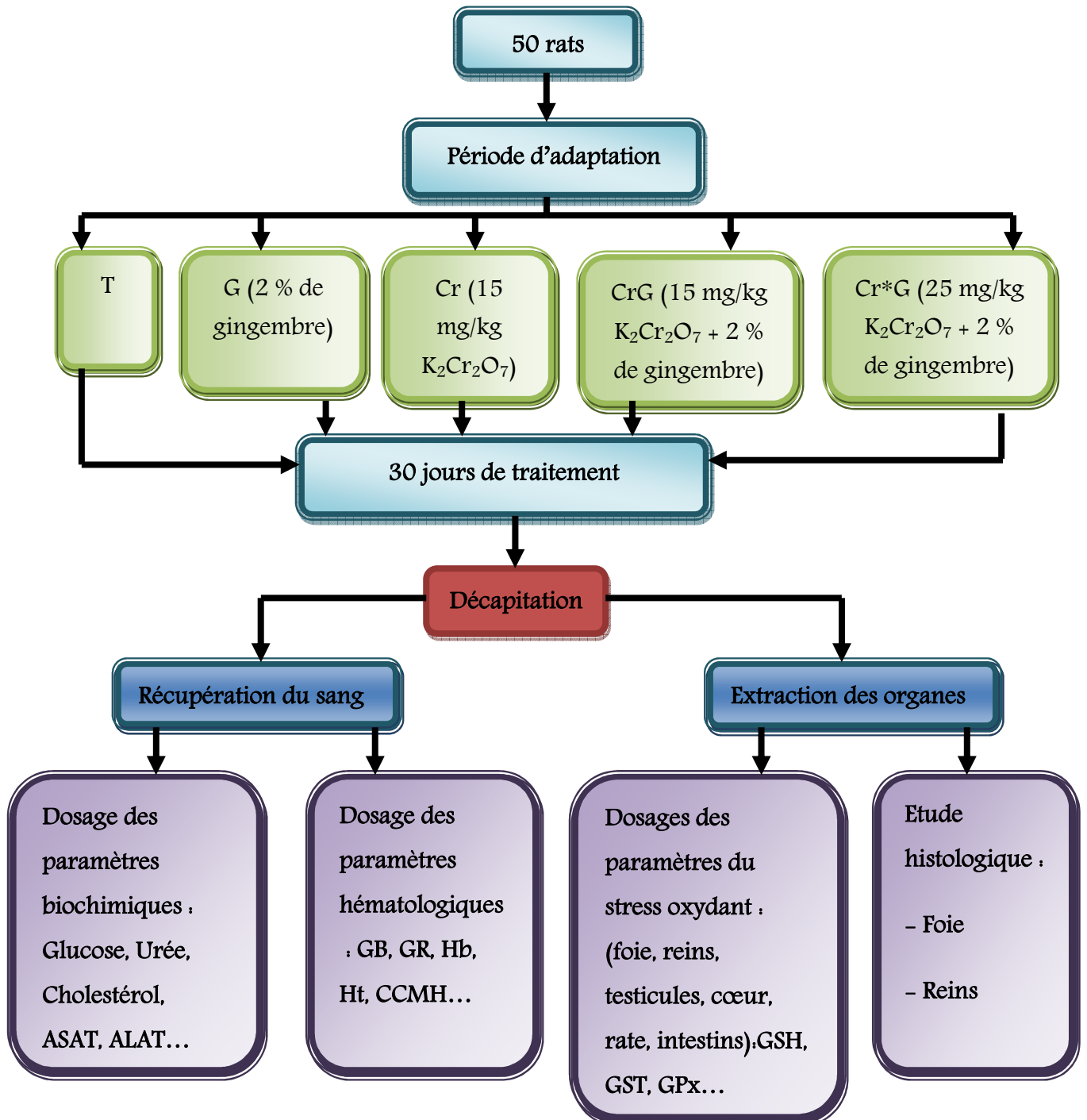


Figure 13 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental

## 1.2. Méthodes de dosage :

### 1.2.1. Mesure de la glycémie :

❖ **Principe** : le dosage du glucose sanguin a été effectué par un glucomètre qui utilise des bandelettes réactives. Ces dernières sont destinées à un usage diagnostique *in vitro* pour le test de la glycémie. Elles sont conçues pour mesurer le glucose dans le sang total capillaire. La bandelette réactive contient de la glucose-oxydase, une enzyme qui oxyde le glucose dans le sang et qui produit de l'acide D-gluconique et du peroxyde d'hydrogène.

❖ **Mode opératoire** : le lecteur se met en marche automatiquement par simple insertion de la bandelette réactive Accu-Chek (dans le sens des flèches et jusqu'à la butée).

- ✓ Le symbole d'une goutte clignote.
- ✓ Déposer la goutte de sang sur la zone de dépôt orange de la bandelette.
- ✓ La mesure est terminée au bout de 5 secondes environ, et le résultat apparaît à l'écran. La glycémie est donnée en g/L.

### 1.2.2. Dosage des paramètres hématologiques :

La mesure de la formule de numération sanguine a été effectuée en utilisant un automate d'hématologie (Marque : ERMA INC). Le tube à EDTA contenant le sang est placé dans l'automate, et la mesure de la FNS commence. Au bout de 2 minutes les résultats s'affichent sur l'écran, et en suite on les imprime. Les paramètres hématologiques mesurés sont : globule rouge (GR), globule blanc (GB), hémoglobine (Hb), hématocrite (HT), plaquettes (PLT), lymphocytes (LY), monocytes (MO), volume globulaire moyen des hématies (VGM) et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH).

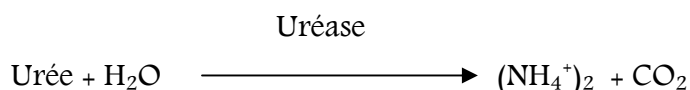
### 1.2.3. Dosage des paramètres biochimiques :

Les paramètres biochimiques mesurés sont : l'urée, la créatinine, l'acide urique, le cholestérol, les triglycérides, les lipides totaux, aspartate aminotransférase (ASAT), alanine aminotransférase (ALAT), lactate déshydrogénase (LDH), phosphatase alcaline (PAL), et la bilirubine totale (TBIL) et directe (DBIL).

#### 1.2.3.1. Dosage de l'urée :

Le dosage de l'urée a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique du Kit Spinréact (Espagne).

❖ **Principe :** l'uréase hydrolyse l'urée en ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) et dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ). Les ions ammonium formés réagissent avec le salicylate et l'hypochlorite en présence du nitroprussiate, pour former un indophénol vert selon les réactions ci-dessous :



L'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillon (Kaplan, 1984).

#### ❖ Réactifs

Réactif 1.	Phosphate pH 6,7	50 mM/L
Tampon	EDTA	2 mM/L
	Salicylate de sodium	400 mM/L

	Nitroprussiate de sodium	10 mM/L
Réactif 2:	Hypochlorite de sodium (NaClO)	140 mM/L
NaClO	Hydroxyde de sodium	150 mM/L
Réactif 3:	Uréase	3000 U/L
Enzymes		
Urée calibrateur	Urée aqueuse (standard)	50 mg/dL

Réactif de travail : dissoudre un comprimé de R3 dans un flacon de R1 et mélanger légèrement.

❖ Mode opératoire :

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (mL)	1,0	1,0	1,0
Etalon (µL)	-	10	-
Echantillon (µL)	-	-	10

Mélanger et incuber 10 min à température ambiante (15-25°C).

	Blanc	Etalon	Echantillon
R2 (mL)	1,0	1,0	1,0

Mélanger et incuber 10 min à température ambiante (15-25°C). Lire l'absorbance (A) des échantillons et de l'étalon, contre le blanc à 580 nm. La couleur est stable pendant 30 minutes à 15°-25°C.

❖ **Calcul de la concentration** : la concentration de l'urée est calculée par la formule suivante :



$$\text{Urée (mg/dL)} = \frac{\text{(A) Echantillon}}{\text{(A) Etalon}} \times 50 \text{ (Concentration du calibrateur)}$$

### 1.2.3.2. Dosage de la créatinine :

Le dosage de la créatinine a été réalisé par la méthode cinétique colorimétrique selon la fiche technique du Kit Spinréact (Espagne).

❖ **Principe** : l'essai est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate de sodium comme décrit par Jaffé. La créatinine réagit avec le picrate alcalin formant un complexe rouge. L'intervalle de temps est choisi pour les mesures de telle sorte qu'il évite des interférences avec d'autres constituants de sérum. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en créatinine dans l'échantillon (Murray, 1984a).

#### ❖ Réactifs :

Réactif 1. Réactif picrique	Acide picrique	17,5 mM/L
Réactif 2. Réactif alcalin	Hydroxyde de sodium	0,29 mM/L
Créatinine calibrateur	Créatinine aqueuse (standard)	2 mg/dL

**Réactif de travail** , mélanger un volume de réactif 1 avec un volume de réactif 2. Le réactif du travail est stable pendant 10 jours à 15-25°C.

## ❖ Mode opératoire :

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (mL)	1,0	1,0	1,0
Etalon (µL)	-	100	-
Echantillon (µL)	-	-	100

Mélanger, déclencher le chronomètre. Lire à 492 nm la densité optique (A1) après 30 secondes et la densité optique (A2) après 90 secondes.

❖ **Calcul de la concentration** : la concentration de la créatinine est calculée par la formule suivante :

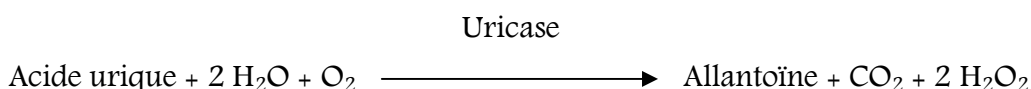
$$\text{Créatinine (mg/dL)} = \frac{(\Delta A) \text{ Echantillon} - (\Delta A) \text{ Blanc}}{(\Delta A) \text{ Etalon} - (\Delta A) \text{ Blanc}} \times 2 \text{ (Concentration du calibrateur)}$$

$(\Delta A) = A2 - A1$

## 1.2.3.3. Dosage de l'acide urique :

Le dosage de l'acide urique a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique du Kit Spinréact (Espagne).

❖ **Principe** : l'acide urique est oxydé par l'uricase en allantoiné et peroxyde d'hydrogène ( $2 \text{ H}_2\text{O}_2$ ) qui, sous l'influence de la peroxydase, du 4-aminophénazone (4-AP), et du 2-4 dichlorophénol-sulfonate (DCPS), forme un composé rouge de quinonéimine donné par les réactions suivantes :





L'intensité de la coloration rouge formée est proportionnelle à la concentration de l'acide urique dans l'échantillon (Schultz, 1984).

#### ❖ Réactifs :

Réactif 1:	Phosphate pH 7,4	50 mM/L
Tampon	2-4 dichlorophénol sulfonate (DCPS)	4 mM/L
Réactif 2:	Uricase	60 U/L
Enzymes	Peroxydase (POD)	660 U/L
	Ascorbate oxydase	200 U/L
	4-Aminophénazone (4-AP)	1 mM/L
Acide urique calibrateur	Acide urique aqueux (standard)	6 mg/dL

**Réactif de travail:** dissoudre le contenu d'une bouteille de R2 dans un flacon de R1.

Mélanger légèrement. La couleur est stable pendant 30 minutes.

#### ❖ Mode opératoire :

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (mL)	1,0	1,0	1,0
Etalon (µL)	-	25	-
Echantillon (µL)	-	-	25

Mélanger et incuber 10 min à 15-25°C. Lire l'absorbance (A) des échantillons et de l'étalon, contre le blanc à 520 nm.

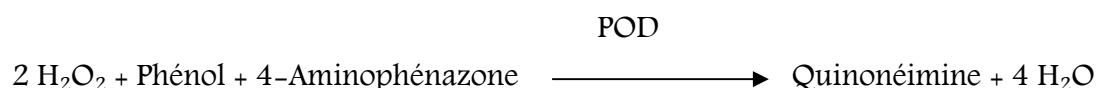
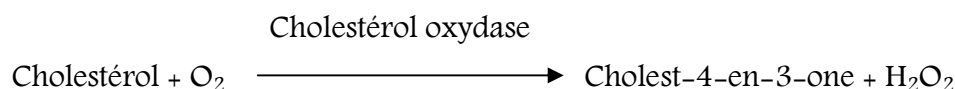
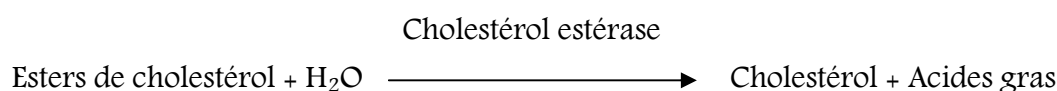
❖ **Calcul de la concentration:** la concentration de l'acide urique est calculée par la formule suivante :

$$\text{Acide urique (mg/dL)} = \frac{\text{(A) Echantillon}}{\text{(A) Etalon}} \times 6 \text{ (Concentration du calibrateur)}$$

#### 1.2.3.4. Dosage du cholestérol :

Le dosage du cholestérol a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique du Kit Spinréact (Espagne).

❖ **Principe :** le cholestérol et ses esters sont libérés à partir des lipoprotéines par des détergents. La cholestérol estérase hydrolyse les esters et le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est formé dans la réaction d'oxydation enzymatique du cholestérol sous l'action de la cholestérol oxydase. Le peroxyde d'hydrogène réagit avec le phénol pour produire le quinonéimine, selon les réactions ci-dessous :



L'intensité de la coloration rouge formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon (Naito, 1984).

## ❖ Réactifs :

Réactif 1:	PIPES pH 6,9	90 mM/L
Tampon	Phénol	26 mM/L
Réactif 2:	Cholestérol estérase (CHE)	300 U/L
Enzymes	Cholestérol oxydase (CHOD)	300 U/L
	Peroxydase (POD)	1250 U/L
	4-Aminophénazone (4-AP)	0,4 mM/L
Cholestérol calibrateur	Cholestérol aqueux (standard)	200 mg/dL

**Réactif de travail.** dissoudre le contenu d'une bouteille de R2 dans un flacon de R1 et mélanger légèrement. Ce réactif est stable pendant 4 mois à 2-8°C ou 40 jours à 15-25°C.

## ❖ Mode opératoire :

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (mL)	1,0	1,0	1,0
Etalon (µL)	-	10	-
Echantillon (µL)	-	-	10

Mélanger et incuber 10 min à température ambiante. Lire l'absorbance (A) des échantillons et de l'étalon, contre le blanc à 505 nm. La couleur est stable pendant 60 minutes.

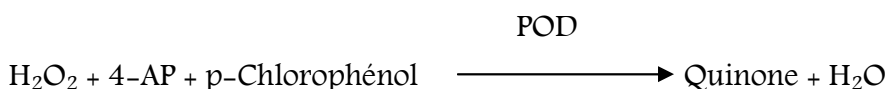
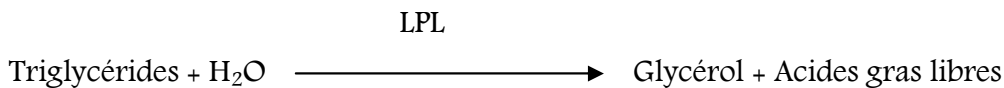
❖ **Calcul de la concentration :** la concentration du cholestérol est calculée par la formule suivante :

$$\text{Cholestérol (mg/dL)} = \frac{(\text{A}) \text{ Echantillon}}{(\text{A}) \text{ Etalon}} \times 200 \text{ (Concentration du calibrateur)}$$

### 1.2.3.5. Dosage des triglycérides :

Le dosage des triglycérides a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique du Kit Spinréact (Espagne).

❖ **Principe :** les triglycérides incubés avec la lipoprotéinlipase (LPL), libèrent le glycérol et les acides gras libres. Le glycérol est converti en glycérol-3-phosphate (G3P) et adénosine-5-diphosphate (ADP) par la glycérol kinase et l'adénosine triphosphate (ATP). Le glycérol-3-phosphate (G3P) est alors converti par la glycérol phosphate déshydrogénase (GPO) en dihydroxyacétone phosphate (DAP) et peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). Dans la dernière réaction, le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) réagit avec 4-aminophénazone (4-AP) et p-chlorophénol en présence de la peroxydase (POD) pour donner une coloration rouge. Le protocole comprend donc les réactions suivantes :



L'intensité de la coloration rouge formée est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans l'échantillon (Bucolo et David, 1973).

## ❖ Réactifs :

Réactif 1:	GOOD pH 7,5	50 mM/L
Tampon	p-Chlorophénol	2 mM/L
Réactif 2:	Lipoprotéine lipase (LPL)	150000 U/L
Enzymes	Glycérol kinase (GK)	500 U/L
	Glycérol-3-oxydase (GPO)	2500 U/L
	Peroxydase (POD)	440 U/L
	4-Aminophénazone (4-AP)	0,1 mM/L
	ATP	0,1 mM/L
Triglycérides calibrateur	Triglycérides aqueux (standard)	200 mg/dL

**Réactif de travail:** dissoudre le contenu d'une bouteille de R2 dans un flacon de R1 et mélanger légèrement. Ce réactif est stable pendant 6 semaines à 2-8°C ou une semaine à 15-25°C.

## ❖ Mode opératoire :

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (mL)	1,0	1,0	1,0
Etalon (µL)	-	10	-
Echantillon (µL)	-	-	10

Mélanger et incubé 10 min à température ambiante. Lire l'absorbance (A) des échantillons et de l'étalon, contre le blanc à 505 nm. La couleur est stable pendant 30 minutes.

❖ **Calcul de la concentration :** la concentration des triglycérides est calculée par la formule suivante :

$$\text{Triglycérides (mg/dL)} = \frac{\text{(A) Echantillon}}{\text{(A) Etalon}} \times 200 \text{ (Concentration du calibrateur)}$$

### 1.2.3.6. Dosage des lipides totaux :

Le dosage des lipides totaux a été réalisé par la méthode colorimétrique selon la fiche technique du Kit Spinréact (Espagne).

❖ **Principe :** dans la première étape les lipides insaturés réagissent avec l'acide sulfurique pour former les ions carbonium. Dans la deuxième étape, les ions de carbonium réagissent avec le phosphovainilline pour donner une couleur rose, l'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration des lipides totaux dans l'échantillon (Kaplan *et al.*, 1984b).

#### ❖ Réactifs :

Réactif:	Phosphovainilline	235 mM/L
Lipides totaux calibrateur	Lipides totaux aqueux (standard)	250 mg/dL
Réactif additonnel	Acide sulfurique (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	

#### ❖ Mode opératoire :

	Etalon	Echantillon
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (mL)	2,5	2,5
Etalon (µL)	100	-
Echantillon (µL)	-	100



Mélanger à l'aide d'un agitateur et laisser incuber pendant 10 minutes dans un bain marie à 100°C, puis refroidir dans une eau glacée et enfin effectuer un transfert dans une cuvette.

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif (mL)	1,0	1,0	1,0
Etalon (µL)	-	-	50
Echantillon (µL)	-	50	-

Mélanger à l'aide d'un agitateur et laisser incuber pendant 15 minutes à 37°C. Lire l'absorbance (A) des échantillons et de l'étalon, contre le blanc à 520 nm. La couleur est stable pendant 1 heure.

❖ **Calcul de la concentration :** la concentration des lipides totaux est calculée par la formule suivante :

$$\text{Lipides totaux (mg/dL)} = \frac{(\text{A}) \text{ Echantillon}}{(\text{A}) \text{ Etalon}} \times 750 \text{ (Concentration du calibrateur)}$$

### 1.2.3.7. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT) :

Le dosage de l'aspartate aminotransférase a été réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique du Kit Spinréact (Espagne).

❖ **Principe :** l'aspartate aminotransférase (ASAT) appelée aussi la glutamate-oxaloacétate transaminase (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate au  $\alpha$ -cétoglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH+H<sup>+</sup> selon les réactions suivantes :



Le taux de la diminution de la concentration en  $\text{NADH} + \text{H}^+$ , mesuré par photométrie, est proportionnel à l'activité catalytique de l'aspartate aminotransférase (Murray, 1984b).

#### ❖ Réactifs :

Réactif 1:	TRIS pH 7,8	80 mM/L
Tampon	L-Aspartate	200 mM/L
Réactif 2:	NADH	0,18 mM/L
Substrat	Lactate déshydrogénase (LDH)	800 U/L
	Malate déshydrogénase (MDH)	600 U/L
	$\alpha$ -cétoglutarate	12 mM/L

**Réactif de travail**, dissoudre un comprimé de R2 dans un flacon de R1 et mélanger légèrement. Ce réactif est stable pendant 21 jours à 2-8°C ou 72 heures à 15-25°C.

#### ❖ Mode opératoire :

Réactif de travail (mL)	1,0
Echantillon ( $\mu\text{L}$ )	100

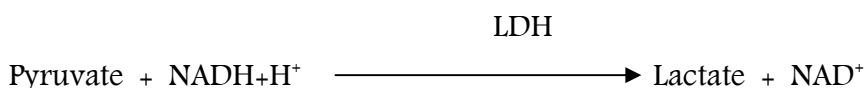
Mélanger et incuber pendant 1 minute. Lire l'absorbance initiale (A) de l'échantillon à 340 nm. Lancer le chronomètre et lire les absorbances pendant 3 minutes à une minute d'intervalle.

- ❖ **Calcul de la concentration** : l'activité catalytique de l'ASAT est calculée par la formule suivante :  $\text{Activité de ASAT (U/L)} = \Delta A/\text{min} \times 1750$

### 1.2.3.8. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT) :

Le dosage de l'alanine aminotransférase a été réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique du Kit Spinréact (Espagne).

- ❖ **Principe** : l'alanine aminotransférase (ALAT) appelée aussi la glutamate-pyruvate transaminase (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'alanine au  $\alpha$ -cétoglutarate formant le glutamate et le pyruvate. Le pyruvate est réduit au lactate par la lactate-déshydrogénase (LDH) et le NADH selon les réactions suivantes :



Le taux de la diminution de la concentration en  $\text{NADH} + \text{H}^+$ , mesuré par photométrie, est proportionnel à l'activité catalytique de l'alanine aminotransférase (Murray, 1984c).

- ❖ **Réactifs** :

Réactif 1.	TRIS pH 7,8	100 mM/L
Tampon	L-Alanine	500 mM/L
Réactif 2.	NADH	0,18 mM/L
Substrat	Lactate déshydrogénase (LDH)	1200 U/L
	$\alpha$ -cétoglutarate	15 mM/L

**Réactif de travail** : dissoudre un comprimé de R2 dans un flacon de R1 et mélanger légèrement. Ce réactif est stable pendant 21 jours à 2-8°C ou 72 heures à 15-25°C.

❖ **Mode opératoire :**

Réactif de travail (mL)	1,0
Echantillon (µL)	100

Mélanger et incuber pendant 1 minute. Lire l'absorbance initiale (A) de l'échantillon à 340 nm. Lancer le chronomètre et lire les absorbances pendant 3 minutes à une minute d'intervalle.

❖ **Calcul de la concentration** : l'activité catalytique de l'ALAT est calculée par la formule suivante : Activité de ALAT (U/L) =  $\Delta A / \text{min} \times 1750$

### 1.2.3.9. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL) :

Le dosage de la phosphatase alcaline a été réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique du Kit Spinréact (Espagne).

❖ **Principe** : la phosphatase alcaline (PAL) catalyse l'hydrolyse du p-nitrophényl phosphate à pH 10,4, libérant le p-nitrophénol et le phosphate, selon la réaction suivante :



Le taux de la diminution de la concentration en  $\text{NADH} + \text{H}^+$ , mesuré par photométrie, est proportionnel à l'activité catalytique de la phosphatase alcaline (Wenger, 1984).

## ❖ Réactifs :

Réactif 1.	Diéthanolamine (DEA) pH 10,4	1 mM/L
Tampon	Chloride de magnésium	0,5 mM/L
Réactif 2.	p-Nitophénylphosphate (pNPP)	10 mM/L
Substrat		

Réactif de travail : dissoudre un comprimé de R2 dans un flacon de R1 et mélanger légèrement. Ce réactif est stable pendant 21 jours à 2-8°C ou 72 heures à 15-25°C.

## ❖ Mode opératoire :

Réactif de travail (mL)	1,2
Echantillon (µL)	20

Mélanger et incuber pendant 1 minute. Lire l'absorbance initiale (A) de l'échantillon à 405 nm. Lancer le chronomètre et lire les absorbances pendant 3 minutes à une minute d'intervalle.

❖ **Calcul de la concentration :** l'activité catalytique de la PAL est calculée par la formule suivante :  $\text{Activité de PAL (U/L)} = \Delta A / \text{min} \times 3300$

## 1.2.3.10. Dosage de la lactate déshydrogénase (LDH) :

Le dosage de la lactate déshydrogénase a été réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique du Kit Spinréact (Espagne).

❖ **Principe** : la lactate déshydrogénase (LDH) catalyse la réduction du pyruvate par le NADH, selon la réaction suivante :



Le taux de la diminution de la concentration en NADH+H<sup>+</sup>, mesuré par photométrie, est proportionnel à l'activité catalytique de la lactate déshydrogénase (Pesce, 1984).

❖ **Réactifs** :

Réactif 1.	Imidazole	65 mM/L
Tampon	Pyruvate	0,6 mM/L
Réactif 2.	NADH	0,18 mM/L
Substrat		

**Réactif de travail** : dissoudre un comprimé de R2 dans un flacon de R1 et mélanger légèrement. Ce réactif est stable pendant 2 jours à 2-8°C ou 12 heures à 15-25°C.

❖ **Mode opératoire** :

Réactif de travail (mL)	3,0
Echantillon (µL)	50

Mélanger et incuber pendant 1 minute. Lire l'absorbance initiale (A) de l'échantillon à 340 nm. Lancer le chronomètre et lire les absorbances pendant 3 minutes à une minute d'intervalle.

❖ **Calcul de la concentration** : l'activité catalytique de la lactate déshydrogénase est calculée par la formule suivante :  $\text{Activité de LDH (U/L)} = \Delta A/\text{min} \times 9690$

### 1.2.3.11. Dosage de la bilirubine totale (TBIL) et directe (DBIL) :

Le dosage de la bilirubine totale et directe a été réalisé par la méthode colorimétrique selon la fiche technique du Kit Spinréact (Espagne).

❖ **Principe** : la bilirubine est convertie en azobilirubine coloré à pH acide par l'acide sulfanilique diazoté et mesurée par photométrie. Cette réaction est instantanée avec la bilirubine directe (la bilirubine conjuguée), par contre avec la bilirubine indirecte (bilirubine non conjuguée) elle nécessite la solubilisation par le diméthylsulfoxyde (DMSO). (En absence de DMSO, seule la bilirubine directe réagit). L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de la bilirubine dans l'échantillon (Kaplan *et al.*, 1984b).

#### ❖ Réactifs :

Réactif 1.	Acide sulfanilique	30 mM/L
(D)	Acide chlorhydrique (HCl)	150 mM/L
Réactif 2.	Acide sulfanilique	30 mM/L
(T)	Acide chlorhydrique (HCl)	50 mM/L
	Diméthylsulfoxyde (DMSO)	7 mM/L
Réactif 3.	Nitrite de sodium	29 mM/L
Calibrateur (facultatif)	Bilirubin calibrateur sous la référence : 1002250	

## ❖ Mode opératoire :

	Blanc	Bilirubine totale	Blanc	Bilirubine directe
Réactif 1 (D) (mL)	-	-	1,5	1,5
Réactif 2 (T) (mL)	1,5	1,5	-	-
Réactif 3 (µL)	-	50	-	50
Echantillon/calibrateur (µL)	100	100	100	100

Mélanger et incuber pendant 5 minutes à température ambiante. Lire l'absorbance (A) de l'échantillon à 555 nm contre le blanc.

❖ **Calcul de la concentration** : la concentration de la bilirubine totale est calculée par la formule suivante :

Bilirubine (mg/dL) = ((A) Echantillon – (A) Blanc échantillon) x Facteur

$$\text{Facteur} = \frac{\text{Concentration de l'étalon}}{(\text{A}) \text{ Etalon} - (\text{A}) \text{ Blanc étalon}}$$

Facteur théorique : Bilirubine totale = 19,1 ; Bilirubine directe = 14

#### 1.2.4. Dosage des paramètres du stress oxydant :

##### 1.2.4.1. Dosage du glutathion (GSH) :

❖ **Principe** : le dosage du glutathion a été réalisé selon la méthode de Weckbecker et Cory (1988). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion.



Pour cela une déprotéinisation de l'homogénat est indispensable afin de garder uniquement les groupements thiol spécifiques du glutathion.

❖ **Préparation de l'homogénat** : le dosage du glutathion a été fait au niveau du foie, des reins, de la rate, des testicules et des intestins. 200 mg de chaque tissu ont été mis en présence de 8 mL d'une solution d'acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA) à 0,02 M, puis ont été broyés à froid en utilisant un broyeur ultra son (4 °C) pour obtenir un homogénat.

❖ **Mode opératoire** :

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

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

$$[\text{GSH}] (\mu\text{M GSH/mg protéines}) = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1,525}{13100 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg protéines}}$$

- ✓ DO : Densité optique.
- ✓ 1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8mL homogénat + 0.2 mL de l'acide salicylique).
- ✓ 1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 mL surnageant + 1 mL Tris + 0.025 mL DTNB).
- ✓ 13100 : Coefficient d'absorbance du groupement -SH à 412 nm.
- ✓ 0.8 : Volume de l'homogénat.
- ✓ 0.5 : Volume du surnageant.

#### 1.2.4.2. Dosage du malondialdéhyde (MDA) :

❖ **Préparation de l'homogénat** : le dosage de MDA a été fait au niveau du foie, et des reins. 500 mg de chaque tissu ont été mis en présence de 5 mL d'une solution de tampon phosphate (0,1 M, pH 7.4), puis ont été broyés à froid (4 °C) en utilisant un broyeur ultra son pendant 30 secondes pour obtenir un homogénat.

❖ **Principe** : le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) médiées par les radicaux libres. Dans notre étude, les taux du MDA hépatique et rénal ont été évalués selon la méthode d'Ohkawa *et al.* (1979). Le dosage repose sur la formation en milieu acide et chaud (100 °C) entre le MDA et l'acide thiobarbiturique (TBA) d'un pigment coloré absorbant à 530 nm, extractible par les solvants organiques comme le butanol.

**❖ Mode opératoire :**

- ✚ Prélever 0,5 mL de l'homogénat.
- ✚ Ajouter 0,5 mL d'acide trichloracétique (TCA) 20 %.
- ✚ Ajouter 1 mL d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 %.
- ✚ Mélanger et incuber au bain marie à une température de 100 °C pendant 15 minutes.
- ✚ Refroidir et additionner de 4 mL de *n*-butanol.
- ✚ Centrifuger pendant 15 minutes à 3000 tours/min.
- ✚ Récupérer le surnageant, et lire la densité optique à 530 nm contre le blanc.

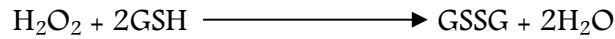
**❖ Calcule de la concentration du MDA :** la quantité du MDA dans l'échantillon est exprimée en nM/gramme de tissu (foie ou reins). Elle est obtenue grâce à une courbe standard réalisée avec du 1,1',3,3'-tetraethoxypropane faite dans les mêmes conditions.

**1.2.4.3. Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) :**

**❖ Préparation de l'homogénat :** le dosage de la glutathion peroxydase a été fait au niveau du foie, et des reins. 500 mg de chaque tissu ont été mis en présence de 5 mL d'une solution TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4), puis ont été broyés à froid (4 °C) en utilisant un broyeur ultra son pendant 30 secondes pour obtenir un homogénat.

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

peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



### ❖ Mode opératoire :

- ✚ Prélever 0.2 mL de l'homogénat.
- ✚ Ajouter 0.4 mL de GSH (0.1 mM).
- ✚ Ajouter 0.2 mL de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4).
- ✚ Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min.
- ✚ Ajouter 0.2mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1,3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 10 minutes.
- ✚ Ajouter 1 mL de TCA (1 %) pour arrêter la réaction.
- ✚ Mettre le mélange dans la glace pendant 30 minutes.
- ✚ Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /minutes.
- ✚ Prélever 0,48 mL du surnageant.
- ✚ Ajouter 2,2 mL de la solution tampon TBS.
- ✚ Ajouter 0,32 mL de DTNB (1 mM)
- ✚ Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc.

### ❖ Calcule de l'activité enzymatique de la GPx: la détermination de l'activité

enzymatique de la GPx se fait à l'aide de la formule suivante :

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

- ✓ Q : Quantité de GSH disparue (oxydée)
- ✓ DO échantillon : Densité optique de l'échantillon.
- ✓ DO étalon : Densité optique de l'étalon.
- ✓ 0.04 : Concentration du substrat (GSH).

$$\text{L'activité de la GPx } (\mu\text{M GSH/min/mg protéines}) = \frac{Q}{\text{mg protéines}}$$

#### 1.2.4.4. Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST) :

- ❖ **Préparation de l'homogénat** : le dosage de la glutathion S-transférase a été fait au niveau du foie, et des reins. 500 mg de chaque tissu ont été mis en présence de 5 ml d'une solution TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4), puis ont été broyés à froid (4 °C) en utilisant un broyeur ultra son pendant 30 secondes pour obtenir un homogénat.
- ❖ **Principe** : la mesure de l'activité des GSTs a été réalisée par la méthode de Habig *et al.* (1974), celle-ci consiste à fournir à l'enzyme un substrat en général du 1-chloro,2,4-dinitrobenzène (CDNB), qui se conjugue facilement avec glutathion sous l'action de nombreuses formes de GST. La réaction de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une molécule nouvelle qui absorbe la lumière à 340 nm de longueur d'onde.
- ❖ **Mode opératoire** : la méthode utilisée dans cette étude consiste à faire agir les GSTs contenues dans l'homogénat sur un mélange (GSH + CDBN) à une température de 37 °C et à un pH de 6,5. La variation de la densité optique, due à l'apparition du complexe

GSH-CDNB, est mesurée pendant 1 minute durant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm.

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

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

$$\text{L'activité de la GST (nM GSH-CDNB/min/mg protéines)} = \frac{(\text{DO échantillon/min} - \text{DO blanc/min})}{9,6 \times \text{mg protéines}}$$

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

#### 1.2.4.5. Dosage de l'activité enzymatique du catalase (CAT) :

❖ **Préparation de l'homogénat** : le dosage de l'activité enzymatique du CAT a été fait au niveau du foie, et des reins. 500 mg de chaque tissu ont été mis en présence de 5 mL d'une solution de tampon phosphate (0,1 M, pH 7.4), puis ont été broyés à froid (4 °C) en

utilisant un broyeur ultra son pendant 30 secondes pour obtenir un homogénat, ce dernier est centrifugé à 5000 tours/min pendant 15 minutes.

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

❖ **Mode opératoire** :

Réactifs	Blanc (µL)	Essai (µL)
Tampon phosphate (0,1 M) pH 7,5	800	780
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (0,5 M)	200	200
Surnageant (S9)	-	20

On note que :

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

- ❖ **Calcul de l'activité enzymatique du CAT** : l'activité enzymatique de la CAT est calculée par la formule suivante :

$$\text{L'activité de la CAT } (\mu\text{M H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg protéines}) = \frac{\Delta\text{DO} \times 10}{\varepsilon \times L \times X \times \text{Fd}}$$

- ✓  $\Delta\text{DO}$  : Variation de la densité optique par minutes.
- ✓  $\varepsilon$  : Coefficient d'extinction du  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $0,04 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ).
- ✓  $L$  : Largeur de la cuve ou longueur du trajet optique (1 cm).
- ✓  $X$  : Quantité des protéines en mg/ml.
- ✓  $\text{Fd}$  : Facteur de dilution du  $\text{H}_2\text{O}_2$  dans le tampon (0,02).

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

#### 1.2.4.6. Dosage des protéines :

- ❖ **Principe** : la concentration de protéines est déterminée selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu de Coomassie (G 250) comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amines ( $-\text{NH}_2$ ) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines).

- ❖ **Mode opératoire** :

🧪 Prélever 0,1 mL de l'homogénat.



- ✚ Ajouter 5 mL du réactif de Bradford.
- ✚ Agiter et laisser reposer 5 min.
- ✚ Lire la densité optique à 595 nm, contre le blanc.

❖ **Calcul de La concentration des protéines :** la densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée. La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (1 mg/mL) réalisée dans les mêmes conditions.

### 1.2.5. Etude histologique :

Les coupes histologiques ont été réalisées à l'hôpital d'Ibn Roched d'Annaba, Service d'Anatomie Pathologique, suivant la technique décrite par (Houlot ,1984). La technique comporte les étapes suivantes :

#### 1.2.5.1. Fixation des échantillons :

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

Les échantillons sont placés dans des cassettes spéciales à parois trouées afin de permettre le passage des liquides au cours des manipulations qui suivent.

### 1.2.5.2. Déshydratation des échantillons :

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

### 1.2.5.3. Inclusion des échantillons :

Les pièces sont alors plongées dans des bains de paraffine liquide. Les tissus étant maintenu et imbibés de paraffine, viennent alors l'étape de l'enrobage qui consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine qui, en se solidifiant, va permettre sa coupe. Cette opération fait appel à des appareils «dits à inclusion» refermant un réservoir de paraffine maintenue à l'état liquide par un système de chauffage, un petit robinet et une plaque métallique réfrigérée pour obtenir la solidification rapide du bloc de paraffine contenant le tissu. La réalisation des coupes minces de quelques microns (5  $\mu\text{m}$  en moyenne) est possible grâce à des appareils spéciaux appelés «Microtomes». Ces coupes sont étalées sur des lames porte-objet, déplissées et fixés sur la lame par l'utilisation d'une eau gélatineuse chauffée.

#### 1.2.5.4. Confection des coupes histologiques :

Les blocs de paraffine sont préalablement taillés avant de subir des coupes au microtome de 4 à 5  $\mu\text{m}$ . Les rubans de paraffine obtenus sont étalés sur des lames porte-objet, puis dépliés et fixés par une eau gélatineuse chauffée à 40 °C. Les lames sont ensuite séchées dans une étuve à 100 °C pendant 1 heure.

#### 1.2.5.5. Coloration :

Pour la coloration, on a utilisé la technique à l'Hématoxyline-Eosine ou (Hématéine-Eosine) ; qui nécessite la présence de l'alcool acide (100 mL d'alcool éthylique à 70 % + 50 ml d'acide HCl), eau ammoniacale (100 mL d'eau distillée + 2 mL Ammoniaque) et solution d'Eosine (100 mL Eosine solution aqueuse à 3 %, 125 mL alcool éthylique à 95 %, 375 mL d'eau distillée et 2 gouttes d'acide acétique). La coloration suit les étapes suivantes :

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

Les préparations ont ensuite été séchées puis observées au microscope optique et photographiées à l'aide d'un appareil photo.

### 1.2.6. Analyse statistique des résultats :

Les résultats obtenus sont exprimés en moyenne plus ou moins l'écart type (Moyenne  $\pm$  SD). L'analyse des données a été effectuée par application du test *t* de Student, qui est basé sur la comparaison des moyennes deux à deux : entre le lot témoin et chacun des lots traités, en utilisant le logiciel MINITAB (Version 13.31). Les différences sont considérées comme :

- Significatives : lorsque ( $P < 0,05$ ).
- Hautement significatives : lorsque ( $P < 0,01$ ).
- Très hautement significatives : lorsque ( $P < 0,001$ ).

L'importance des antioxydants (gingembre) dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates

## CHAPITRE 2

# RÉSULTATS ET DISCUSSION

## 2. Résultats et Discussion :

### 2.1. Influence du traitement sur le poids corporel des rats et les rapports organo-somatiques :

#### ➤ Résultats :

Le traitement des rats par le dichromate de potassium n'a produit aucun signe apparent de toxicité/mortalité. Pendant la période de traitement, l'évaluation du poids corporel des rats traités n'a pas été influencée par rapport à celle des rats témoins. La figure 14 représente les résultats obtenus de la variation du poids corporel des rats. Cependant, nous avons constaté une augmentation significative ( $P < 0,05$ ) des indices hépato et réno-somatiques chez les rats traités par le chrome, tandis que nous n'avons enregistré aucune différence significative chez les autres différents groupes. Une différence non significative a été notée chez tous les rats tout en comparant aux rats témoins dans les rapports : cardio-somatique, spléno-somatique et gono-somatique (tableau 8 ; figure 15).

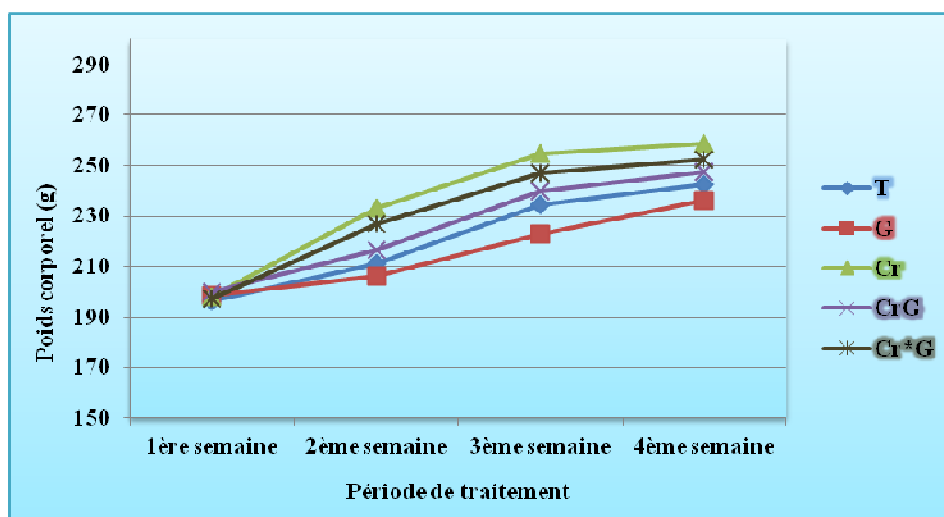
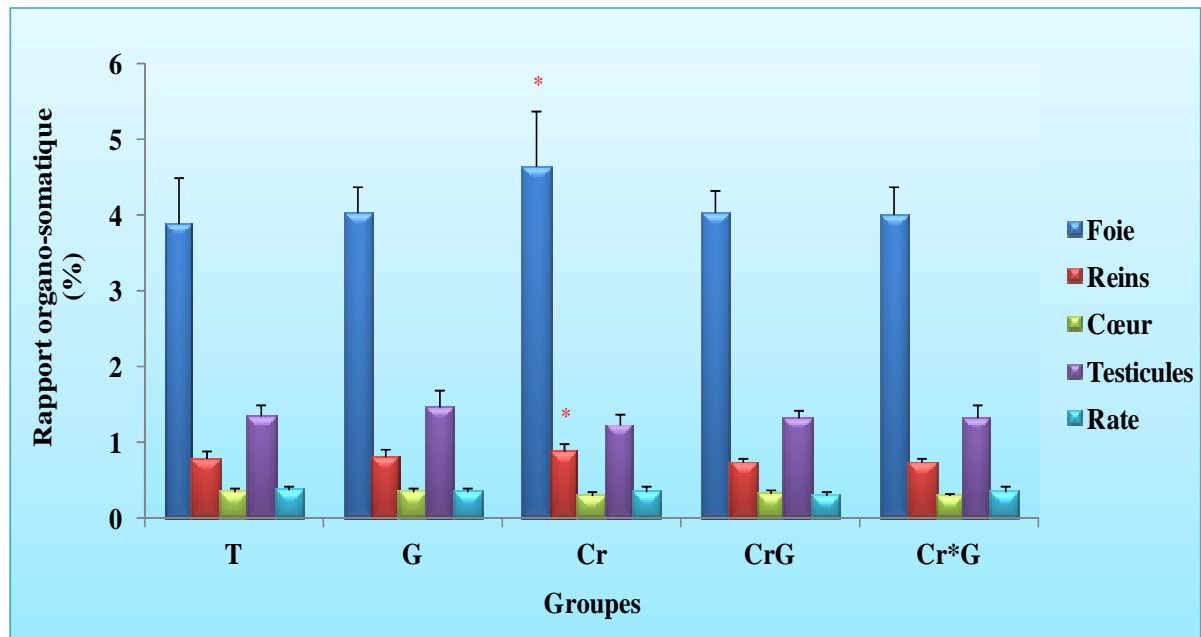


Figure 14 : Evaluation du poids corporel (g) des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

**Tableau 8** : Variations des rapports organo-somatiques (%) chez les rats témoins (T) et traités (G; Cr; CrG; Cr\*G) après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD de 10 rats).

Rapports (%)	Groupes				
	T	G	Cr	CrG	Cr*G
Hépto-somatique	3,88 $\pm$ 0,62	4,04 $\pm$ 0,34	4,65 $\pm$ 0,72*	4,04 $\pm$ 0,29	4,00 $\pm$ 0,35
Réno-somatique	0,79 $\pm$ 0,09	0,82 $\pm$ 0,09	0,89 $\pm$ 0,09*	0,75 $\pm$ 0,05	0,75 $\pm$ 0,04
Cardio-somatique	0,34 $\pm$ 0,05	0,34 $\pm$ 0,04	0,30 $\pm$ 0,03	0,32 $\pm$ 0,05	0,29 $\pm$ 0,02
Gono-somatique	1,34 $\pm$ 0,15	1,47 $\pm$ 0,22	1,23 $\pm$ 0,13	1,32 $\pm$ 0,11	1,31 $\pm$ 0,17
Spléno-somatique	0,37 $\pm$ 0,04	0,35 $\pm$ 0,05	0,35 $\pm$ 0,07	0,30 $\pm$ 0,03	0,34 $\pm$ 0,08

\* (P< 0,05) : Différence significative comparant au témoin.



**Figure 15** : Variations des rapports organo-somatiques (%) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

### ➤ Discussion :

Au vu des résultats obtenus, la croissance physiologique des rats n'a pas été affectée par le dichromate de potassium, le gingembre ou les deux types de combinaison. Le régime n'a pas changé et les rats ont maintenu un appétit normal, ce qui a retenu leur croissance. Néanmoins, le traitement oral par le dichromate de potassium a entraîné une augmentation significative dans les poids relatifs du foie et des reins. Les dérivés du chrome (VI) sont des agents oxydants bien connus, capables d'induire directement des lésions tissulaires et possèdent des pouvoirs cancérigènes, mutagènes et tératogènes (Sugiyama, 1992). Les composés du Cr (VI) sont facilement absorbés par les cellules et sont ensuite réduits en Cr



(III). Cette réduction génère des radicaux libres, qui jouent un rôle majeur dans les effets biologiques néfastes de ces composés (Shi *et al.*, 1999). Les travaux de Geetha *et al.* (2003) ont montré que l'administration de dichromate de potassium à 30 mg/kg pendant 30 jours a augmenté le poids relatif des organes chez les rats (foie, les reins, le cœur et la rate).

## 2.2. Influences du traitement sur les paramètres hématologiques :

### ➤ Résultats :

Le tableau 9 et les figures (16-24) illustrent les résultats de la formule numérique sanguine des rats témoins et traités. Après 30 jours de traitement, les résultats exposent que l'administration du gingembre dans le régime alimentaire n'a révélé aucun changement statistiquement significatif de la FNS. En outre, chez les rats traités par le dichromate de potassium, nous avons remarqué une diminution très hautement significative des globules rouges et des hématocrites ( $P < 0,001$ ), hautement significative d'hémoglobine ( $P < 0,01$ ), et significative du volume globulaire moyen ( $P < 0,05$ ) tout en comparant aux rats témoins. L'association du chrome avec le gingembre (CrG) n'a pas montré un changement significatif dans la plupart des paramètres de la formule numérique sanguine, mais une diminution hautement significative des globules rouges ( $P < 0,01$ ) et significative des hématocrites ( $P < 0,05$ ) a été notée chez les rats par rapport au lot témoin. Dans le groupe traité par la deuxième combinaison (Cr\*G), les résultats montrent une diminution significative très hautement significative au niveau des globules rouges ( $P < 0,001$ ), significative d'hémoglobine et des hématocrites ( $P < 0,05$ ) par rapport au groupe témoin.

**Tableau 9** : Variation des paramètres hématologiques chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD de 10 rats).

Paramètres	Groupes				
	T	G	Cr	CrG	Cr*G
GB ( $10^3/\mu\text{L}$ )	9,07 $\pm$ 1,26	8,54 $\pm$ 0,80	6,70 $\pm$ 0,70	8,33 $\pm$ 0,98	7,08 $\pm$ 0,75
GR ( $10^6/\mu\text{L}$ )	8,92 $\pm$ 0,67	7,79 $\pm$ 1,34	6,70 $\pm$ 0,50***	7,81 $\pm$ 0,76**	6,75 $\pm$ 0,39***
Hb (g/dL)	13,54 $\pm$ 0,85	12,52 $\pm$ 1,29	11,51 $\pm$ 1,55**	13,52 $\pm$ 1,09	12,33 $\pm$ 1,32*
HT (%)	51,21 $\pm$ 3,37	47,54 $\pm$ 5,69	34,96 $\pm$ 4,66***	44,83 $\pm$ 6,05*	43,89 $\pm$ 6,98*
VGM (fl)	54,00 $\pm$ 3,79	50,26 $\pm$ 4,46	48,94 $\pm$ 3,36*	51,53 $\pm$ 3,31	51,39 $\pm$ 4,23
CCMH (pg)	32,33 $\pm$ 2,90	33,03 $\pm$ 3,47	31,43 $\pm$ 2,23	32,01 $\pm$ 1,78	31,84 $\pm$ 1,88
PLT ( $10^3/\mu\text{L}$ )	303,60 $\pm$ 80,10	248,40 $\pm$ 37,20	240,80 $\pm$ 55,70	269,60 $\pm$ 68,50	247,10 $\pm$ 49,20
LY ( $10^3/\mu\text{L}$ )	5,98 $\pm$ 0,84	5,72 $\pm$ 0,90	5,14 $\pm$ 0,67	5,67 $\pm$ 0,47	5,51 $\pm$ 0,66
MO ( $10^3/\mu\text{L}$ )	1,21 $\pm$ 0,27	1,22 $\pm$ 0,28	0,98 $\pm$ 0,15	1,14 $\pm$ 0,14	1,05 $\pm$ 0,22

\* (P< 0,05) : Différence significative comparant au témoin.

\*\* (P< 0,01) : Différence hautement significative comparant au témoin.

\*\*\* (P< 0,001) : Différence très hautement significative comparant au témoin.

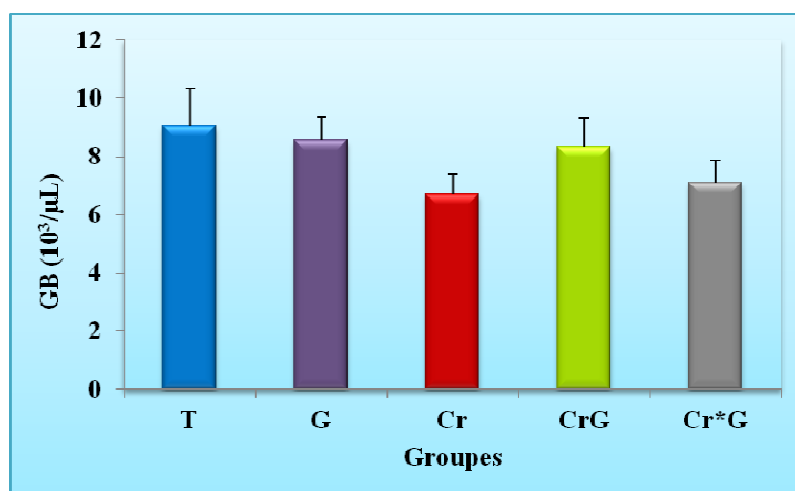


Figure 16 : Variation du nombre des globules blancs ( $10^3/\mu\text{L}$ ) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

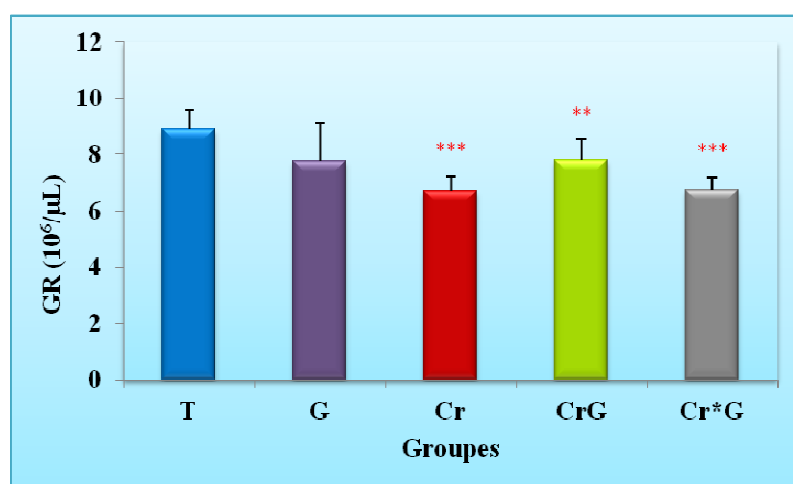
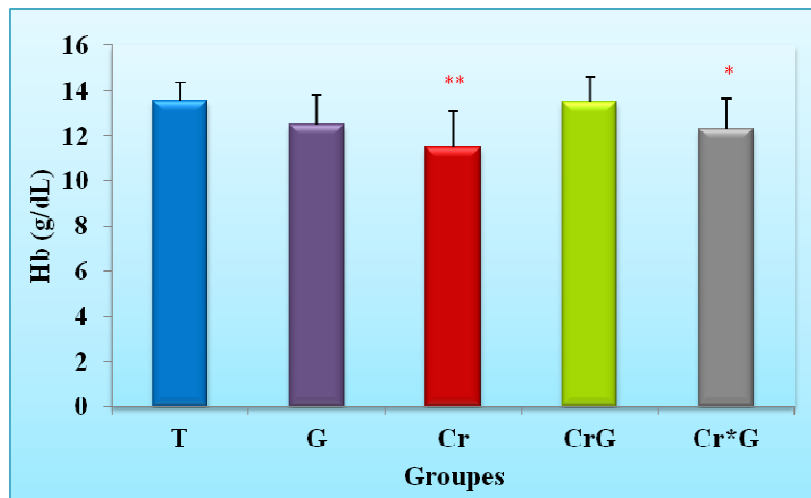


Figure 17 : Variation du nombre des globules rouges ( $10^6/\mu\text{L}$ ) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\*\* ( $P < 0,01$ ) : Différence hautement significative comparant au témoin.

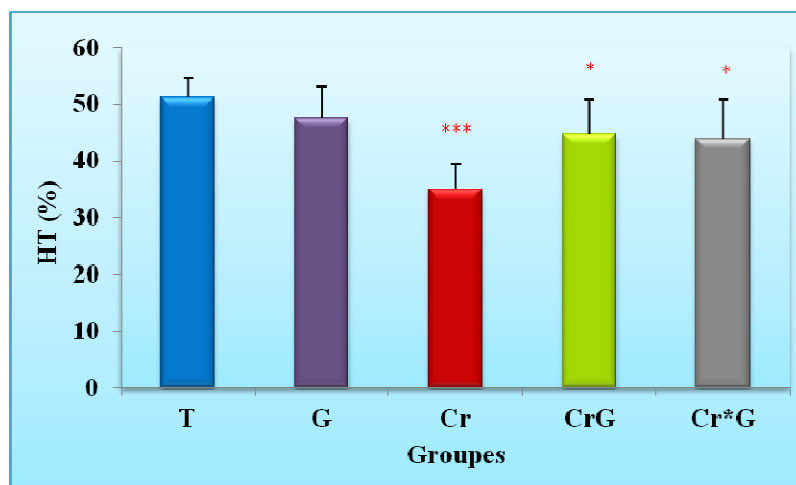
\*\*\* ( $P < 0,001$ ) : Différence très hautement significative comparant au témoin.



**Figure 18** : Variation du taux de l'hémoglobine (g/dL) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

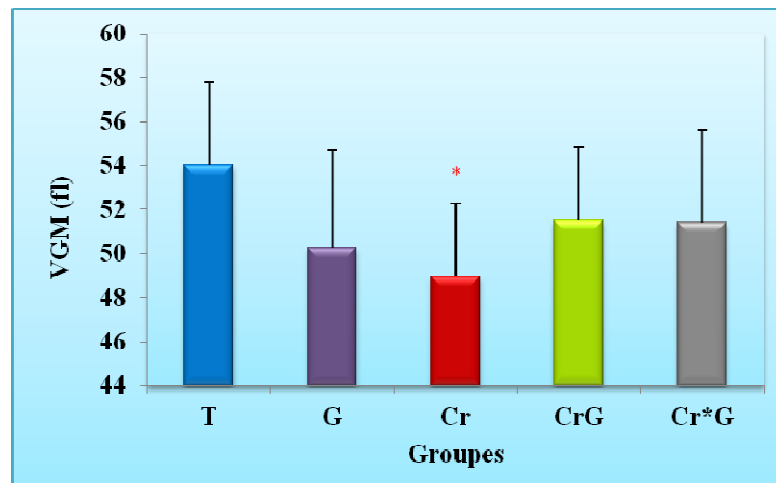
\*\* ( $P < 0,01$ ) : Différence hautement significative comparant au témoin.



**Figure 19** : Variation du pourcentage de l'hématocrite (%) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

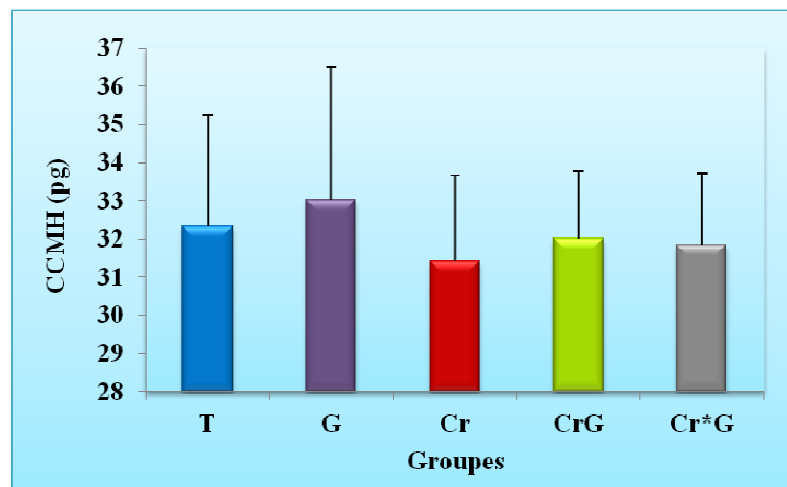
\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

\*\*\* ( $P < 0,001$ ) : Différence très hautement significative comparant au témoin.



**Figure 20** : Variation du volume globulaire moyen (fl) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.



**Figure 21** : Variation du taux de la CCMH (pg) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

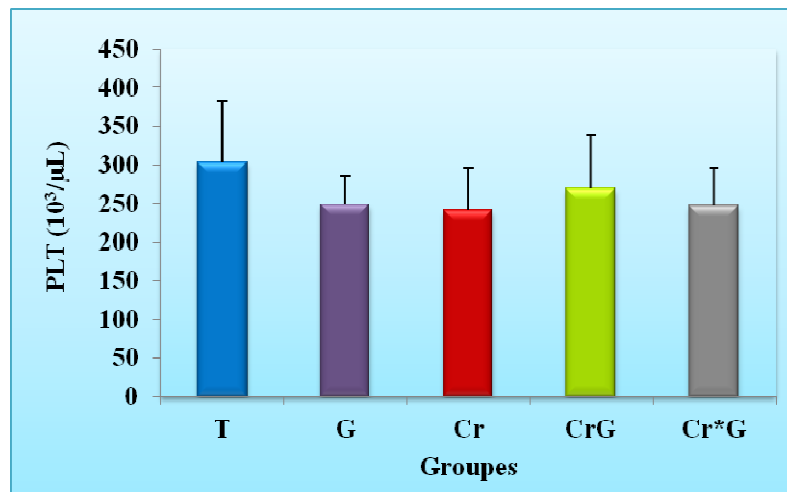


Figure 22 : Variation du nombre des plaquettes ( $10^3/\mu\text{L}$ ) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

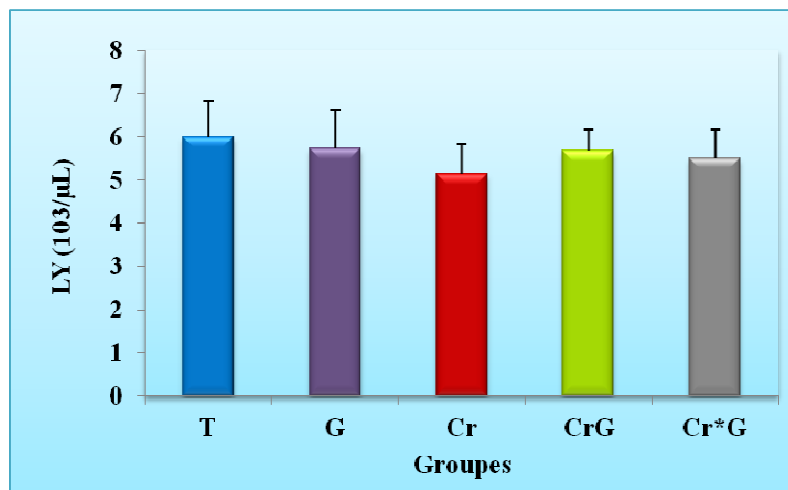
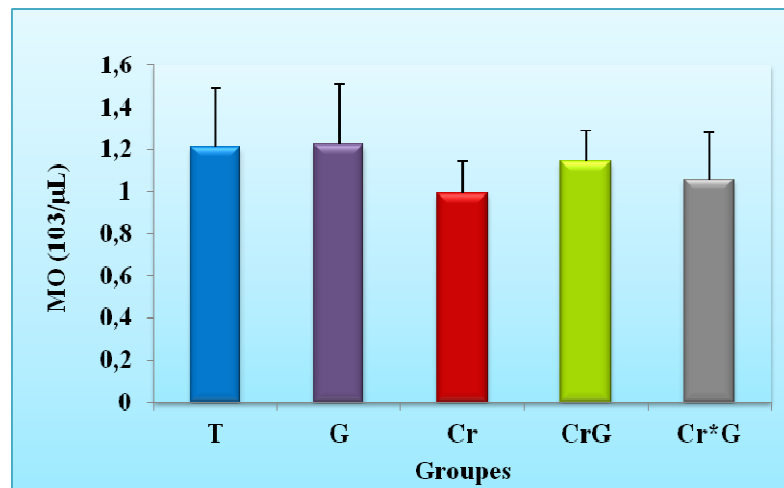


Figure 23 : Variation du nombre des lymphocytes ( $10^3/\mu\text{L}$ ) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.



**Figure 24** : Variation du nombre des monocytes ( $10^3/\mu\text{L}$ ) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG et Cr\*G) après 30 jours de traitement.

### ➤ Discussion :

A la lumière de nos résultats, nous pouvons dire que la toxicité induite par le dichromate de potassium ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) a été exprimée par des modifications importantes des paramètres hématologiques précités. Globalement, il semble que l'effet des chromates a entraîné une baisse de la GR, Hb, MCV, HCT. Cela peut révéler une anémie causée par les dérivés du  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ . Staniek *et al.*, (2010) ont démontré des changements dans les paramètres hématologiques chez les rats après un traitement par le propionate de chrome(III) (CrPop) par rapport aux rats témoins. Mertz (1969) a démontré que le Cr (VI) a une grande capacité à pénétrer à travers la membrane cellulaire, où il sera réduit en Cr (III), qui se lie fortement à l'hémoglobine, ce qui peut sans doute expliquer l'anémie causée par le chromate. Par ailleurs, l'association du gingembre avec le dichromate de potassium (25 mg/kg) a révélé l'effet protecteur du gingembre contre l'action néfaste du  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ .

## 2.3. Influence du traitement sur les paramètres biochimiques :

### 2.3.1. Influence du traitement sur la glycémie :

#### ➤ Résultats

D'après le tableau 10 et la figure 25, nous constatons qu'il n'y a aucun changement statistiquement significatif des niveaux du glucose sanguin chez les rats traités par le dichromate de potassium (Cr), ainsi que les rats traités par le gingembre ou les deux types de combinaison (CrG, Cr\*G) en comparaison avec les rats témoins.

**Tableau 10** : Variation de la concentration du glucose sanguin chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD de 10 rats).

Paramètres	Groupes				
	T	G	Cr	CrG	Cr*G
Glucose (g/L)	1,15 $\pm$ 0,15	1,10 $\pm$ 0,14	1,21 $\pm$ 0,11	1,19 $\pm$ 0,11	1,20 $\pm$ 0,10



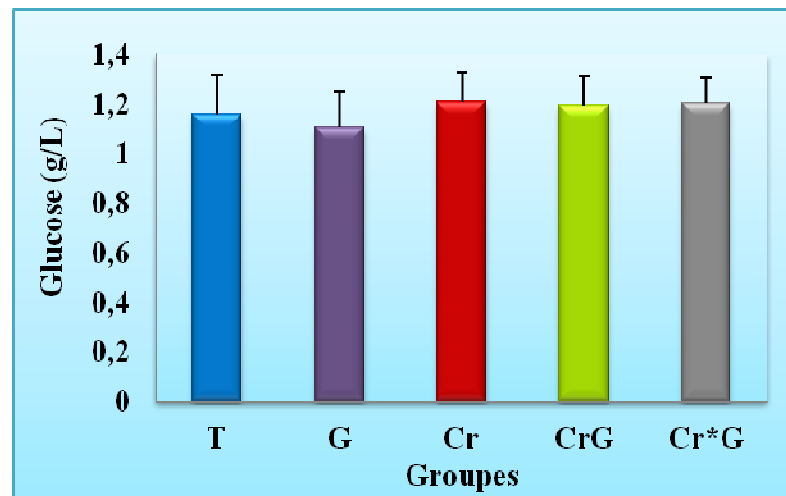


Figure 25 . Variation de la concentration du glucose sanguin (g/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

➤ **Discussion :**

Le chrome est un métal de transition essentiel, suggéré comme étant bénéfique chez les personnes présentant une intolérance au glucose, diabète de type 2, diabète gestationnel et diabète induit par les stéroïdes, il présente des propriétés de renforcer l'action de l'insuline et le transport du glucose au niveau moléculaire (Chen *et al.*, 2006 ; Pattar *et al.*, 2006 ; Horvath *et al.*, 2008). La carence en chrome est associée à l'hyperglycémie chez les animaux de laboratoire ainsi que les humains. Cette hyperglycémie peut être renversée par la supplémentation en chrome (Freund *et al.*, 1979 ; Verhage *et al.*, 1996). L'hyperglycémie est l'une des extrémités opposées de l'axe du glucose/insuline. Si le chrome est un facteur clé de l'homéostasie globale du glucose/l'insuline, il devrait être efficace pour contrôler les symptômes cliniques de l'hypoglycémie (Zhao *et al.*, 2009). Le CrProp a été largement étudié au regard de son potentiel hypoglycémique dans les différents modèles expérimentaux sur

des animaux de laboratoire (Król et Krejpcio, 2011). En outre, la capacité de chrome pour améliorer l'absorption du glucose stimulée par l'insuline dans les cellules en culture a été rapporté précédemment (Yoshimoto *et al.*, 1992 ; Yang *et al.*, 2005). Dans notre étude, les résultats indiquent que les concentrations de glucose dans le sang n'ont pas été affectées chez rats traités par le chromate par rapport aux rats témoins malgré sa toxicité, cela peut être expliqué par l'effet hypoglycémiant du chrome. Cet effet a été rapporté même dans des conditions insulino-dépendantes (Shinde et Goyal, 2003 ; Shinde *et al.*, 2004). Le chrome peut moduler l'activité de l'insuline en augmentant les récepteurs de l'insuline de cellules sensibles ou de l'activité de liaison et l'amélioration de l'activité de signalisation de l'insuline intracellulaire (Anderson, 1997 ; Wang *et al.*, 2006 ; Sahin *et al.*, 2007). Dans des études utilisant des bétails, la supplémentation du chrome n'a pas également affecté le taux de glucose plasmatique (Kegley *et al.*, 1997). Nos résultats ont démontré aussi les changements non significatifs de la concentration sanguine de glucose chez les rats traités avec du gingembre. Beaucoup d'investigations ont signalé que le phénol, les composés de polyphénols et les flavonoïdes du gingembre sont responsables de son activité hypoglycémiant et d'autres activités pharmacologiques (Jiang *et al.*, 2006). Nos résultats concordent avec les résultats publiés par Shanmugam *et al.*, (2011) et qui ont démontré que le traitement des rats par le gingembre à raison de 200 mg/kg du poids corporel n'a pas affecté le taux de glucose sanguin. Cependant, le même traitement chez les rats diabétiques a illustré l'effet hypoglycémiant du gingembre. Dans notre étude, la glycémie n'a pas été affectée chez tous les rats traités ; nous pouvons expliquer ce résultat par le rôle efficace du chrome et du gingembre dans la régulation de la concentration sanguine en glucose.

### 2.3.2. Influence du traitement sur la fonction rénale :

#### ➤ Résultats :

Les résultats du tableau 11 et des figures (26–28) illustrent une augmentation hautement significative de l'urée, la créatinine et l'acide urique ( $P < 0,01$ ) chez les rats traités par le dichromate de potassium seul, et une diminution significative de l'acide urique ( $P < 0,05$ ) chez les rats traités par le gingembre en comparant aux témoins. L'association du dichromate de potassium à 15 mg/kg du poids corporel avec le gingembre n'a montré aucune différence significative de l'urée, la créatinine et l'acide urique par rapport au lot témoin. Une augmentation significative ( $P < 0,05$ ) des paramètres précédemment cités a été remarquée chez les rats traités par la combinaison du dichromate de potassium à 25 mg/kg du poids corporel et le gingembre en comparant toujours aux rats témoins.

**Tableau 11** : Variation de la concentration sérique de l'urée, créatinine et acide urique chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD de 10 rats).

Paramètre	Groupes				
	T	G	Cr	CrG	Cr*G
Urée (g/L)	0,27 $\pm$ 0,04	0,26 $\pm$ 0,03	0,34 $\pm$ 0,04**	0,25 $\pm$ 0,05	0,32 $\pm$ 0,02*
Créatinine (mg/L)	10,20 $\pm$ 2,50	12,90 $\pm$ 2,90	15,30 $\pm$ 2,70**	11,60 $\pm$ 1,60	13,8 $\pm$ 2,60*
Acide urique (mg/L)	49,00 $\pm$ 8,50	37,00 $\pm$ 8,7*	64,80 $\pm$ 8,20**	54,10 $\pm$ 12,6	60,00 $\pm$ 11,8*

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

\*\* ( $P < 0,01$ ) : Différence hautement significative comparant au témoin.

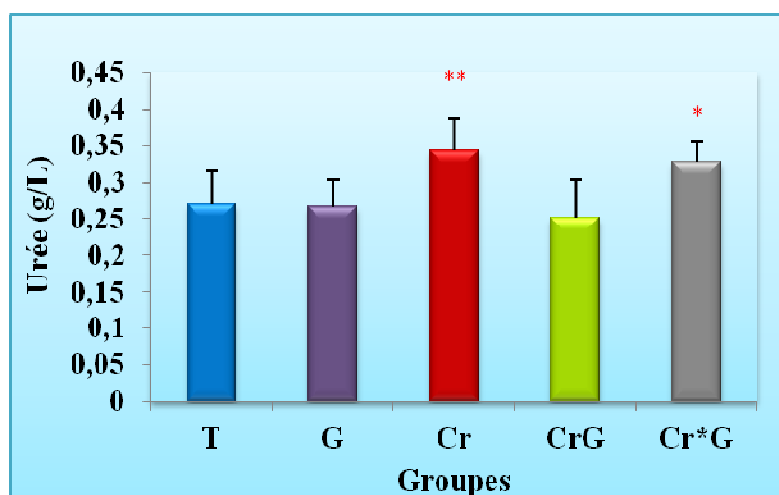


Figure 26 : Variation de la concentration sérique de l'urée (g/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

\*\* ( $P < 0,01$ ) : Différence hautement significative comparant au témoin.

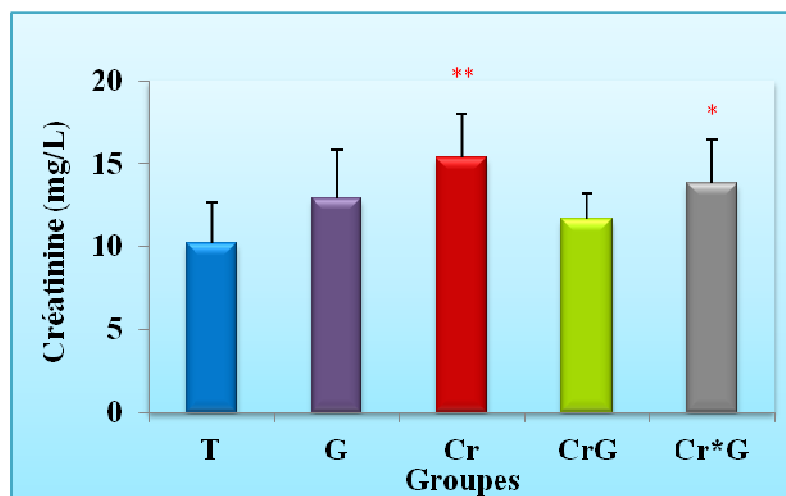
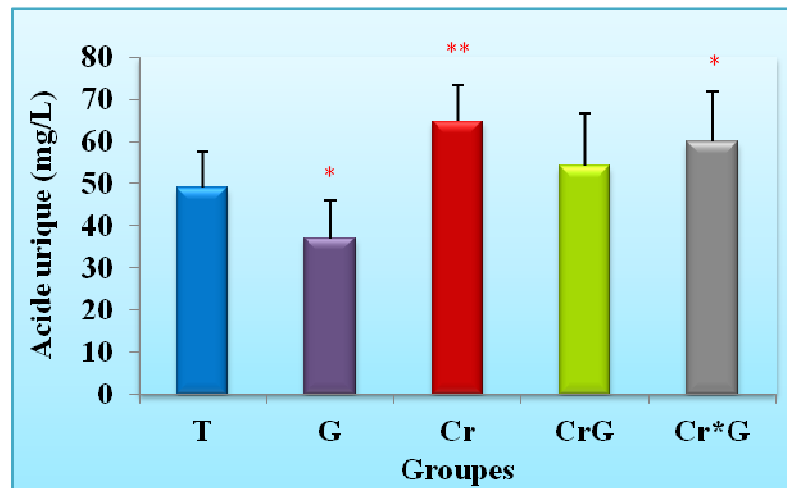


Figure 27 : Variation de la concentration sérique de la créatinine (mg/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

\*\* ( $P < 0,01$ ) : Différence hautement significative comparant au témoin.



**Figure 28.** Variation de la concentration sérique de l'acide urique (mg/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

\*\* ( $P < 0,01$ ) : Différence hautement significative comparant au témoin.

### ➤ Discussion :

Dans notre étude, l'administration du dichromate de potassium aux rats a provoqué une néphrotoxicité. Ces résultats sont similaires à ceux publiés par des études antérieures (Barrera *et al.*, 2003 ; Fatima et Mahmood, 2007 ; Pedraza-Chaverri *et al.*, 2008). Les résultats obtenus montrent clairement que le dichromate de potassium a entraîné une altération de la fonction rénale révélée par l'augmentation des niveaux de ses marqueurs dans le sérum (urée, créatinine et acide urique). Le rein est la voie principale d'excrétion. Il a été indiqué que l'exposition aiguë au  $K_2Cr_2O_7$  chez le rat induit une augmentation de la teneur du rein en chrome (Pedraza-Chaverri *et al.*, 2008). Les dérivés de Cr (VI) sont facilement absorbés par les cellules et sont ensuite réduits en Cr (III). Cette réduction génère des radicaux libres, qui jouent un rôle majeur dans les effets biologiques indésirables

du chrome (Shi *et al.*, 1999). L'exposition aux dérivés du Cr (VI) peut amener à une néphrotoxicité chez les humains et les animaux de laboratoire (Fatima et Mahmood, 2007). Cette néphrotoxicité est probablement due à l'interaction du  $K_2Cr_2O_7$  avec la membrane cellulaire conduisant à modifier sa perméabilité et à la perte de l'intégrité fonctionnelle dans le rein. Les travaux de Soudani *et al.* (2010) ont montré une augmentation de l'urée et de la créatinine plasmatique chez les rats traités avec le  $K_2Cr_2O_7$  à raison de 67 mg/kg pendant 21 jours. Le traitement des rats avec le gingembre n'a montré aucun changement ou altération de la fonction rénale. En revanche, le traitement des rats par la combinaison (CrG) a amélioré partiellement les effets toxiques induits par le dichromate de potassium. L'effet protecteur du gingembre a été reflété par les changements des concentrations sériques de l'urée, la créatinine, et l'acide urique, montrant ainsi la capacité du gingembre à protéger contre les dommages rénaux induits par le  $K_2Cr_2O_7$ . Des études précédentes avait démontré l'activité importante des extraits du gingembre à lutter contre le stress oxydant, et piéger les radicaux libres (Masuda *et al.*, 2004 ; Ajith *et al.*, 2007a). Cette activité de piégeage de radicaux libres pourrait être efficace pour protéger la fonction rénale et réduire la réactivité des ROS générés de la réduction du chromate dans les tubules proximaux du rein. Ajith *et al.* (2007a) ont également démontré l'effet protecteur du gingembre contre la toxicité induite par le cisplatine en diminuant les concentrations sérique de la créatinine et de l'urée.

### 2.3.3. Influence du traitement sur la fonction hépatique :

#### ➤ Résultats :

Le traitement des rats par le dichromate de potassium à 15 mg/kg du poids corporel entraîne une augmentation hautement significative des transaminases et de la lactate déshydrogénase ( $P < 0,01$ ) tout en comparant aux rats témoins, cependant, nous observons aucune différence statistiquement significative chez les rats nourris avec le régime alimentaire contenant le gingembre. Une augmentation très hautement significative a été notée pour la phosphatase alcaline ( $P < 0,001$ ). L'administration du gingembre avec le dichromate de potassium (15 mg/kg) montre une augmentation significative des quatre paramètres (ASAT, ALAT, PAL, LDH) ( $P < 0,05$ ). En revanche, nous enregistrons une augmentation hautement significative de ces paramètres chez les rats traités avec la combinaison (Cr\*G) ( $P < 0,01$ ) par rapport aux rats témoins. En ce qui concerne la bilirubine totale et directe, les résultats illustrent une augmentation significative ( $P < 0,05$ ) pour les rats traité par le dichromate de potassium seulement, par contre, nous ne remarquons aucune différence statistiquement significative dans le reste des lots en comparaison avec le lot témoin (tableau 12 et figures 29-34).

**Tableau 12 :** Variation de l'activité enzymatique de l'ASAT, l'ALAT, la LDH, la PAL, et la concentration sérique en TBIL et DBIL chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD de 10 rats).

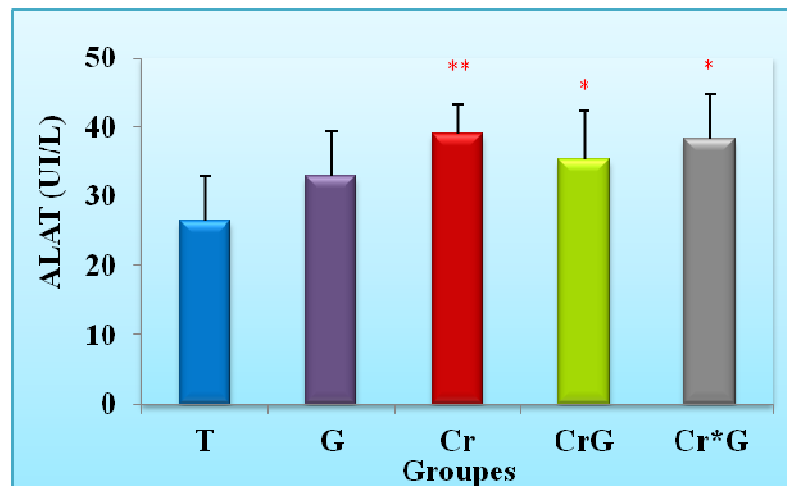
Paramètres	Groupes				
	T	G	Cr	CrG	Cr*G
ALAT (UI/L)	26,43 $\pm$ 6,45	32,89 $\pm$ 6,54	39,00 $\pm$ 4,40**	35,25 $\pm$ 7,10*	38,40 $\pm$ 6,45**
ASAT (UI/L)	30,08 $\pm$ 9,32	37,27 $\pm$ 9,55	48,27 $\pm$ 4,56**	40,98 $\pm$ 3,52*	44,16 $\pm$ 3,84**
PAL (UI/L)	130,90 $\pm$ 14,60	145,30 $\pm$ 13,2	226,40 $\pm$ 17,90***	150,1 $\pm$ 15,9*	159,4 $\pm$ 11,0**
LDH (UI/L)	165,10 $\pm$ 32,10	177,90 $\pm$ 31,9	225,90 $\pm$ 18,50**	198,0 $\pm$ 18,2*	206,5 $\pm$ 19,7**
TBIL (mg/L)	11,30 $\pm$ 2,80	9,20 $\pm$ 2,70	14,9 $\pm$ 3,70*	11,80 $\pm$ 3,60	13,00 $\pm$ 2,10
DBIL (mg/L)	5,60 $\pm$ 2,00	6,10 $\pm$ 2,20	8,70 $\pm$ 3,10*	5,50 $\pm$ 1,30	5,30 $\pm$ 1,80

\* (P< 0,05) : Différence significative comparant au témoin.

\*\* (P< 0,01) : Différence hautement significative comparant au témoin.

\*\*\* (P< 0,001) : Différence très hautement significative comparant au témoin.

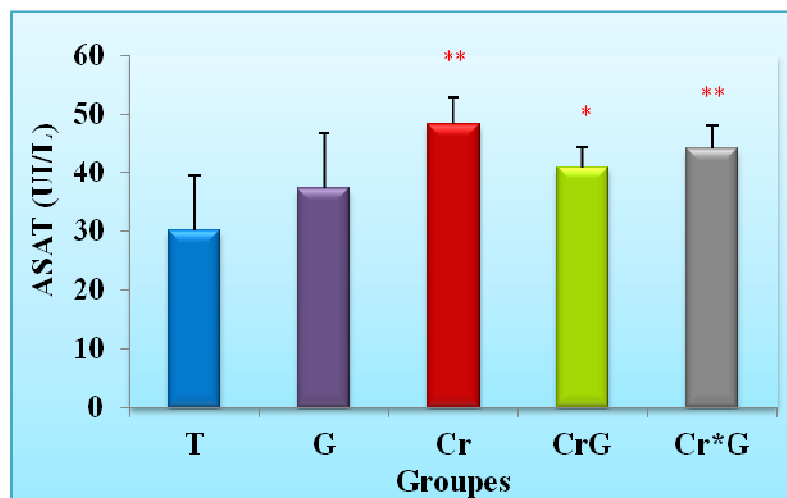




**Figure 29** : Variation de l'activité enzymatique de l'ALAT (UI/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

\*\* ( $P < 0,01$ ) : Différence hautement significative comparant au témoin.



**Figure 30** : Variation de l'activité enzymatique de l'ASAT (UI/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

\*\* ( $P < 0,01$ ) : Différence hautement significative comparant au témoin.

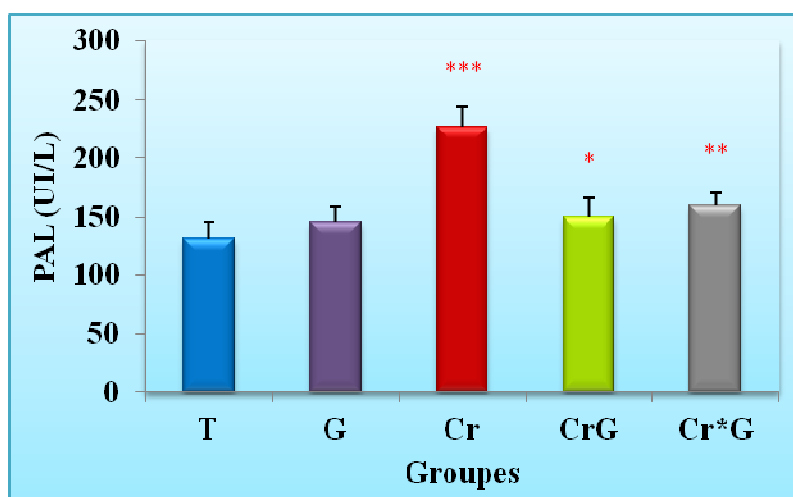


Figure 31 : Variation de l'activité enzymatique de la PAL (UI/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

\*\* ( $P < 0,01$ ) : Différence hautement significative comparant au témoin.

\*\*\* ( $P < 0,001$ ) : Différence très hautement significative comparant au témoin.

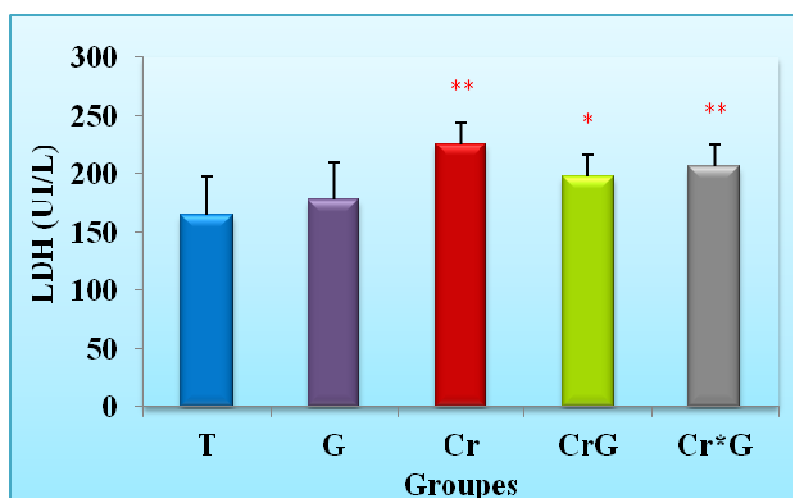
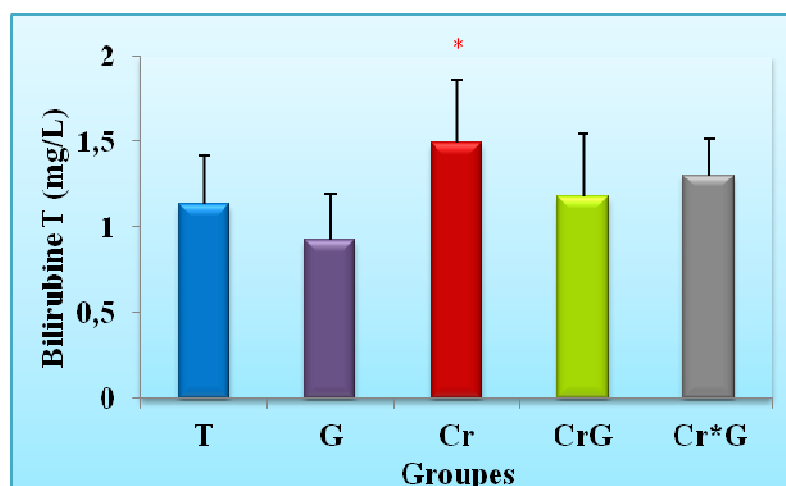


Figure 32 : Variation de l'activité enzymatique de la LDH (UI/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

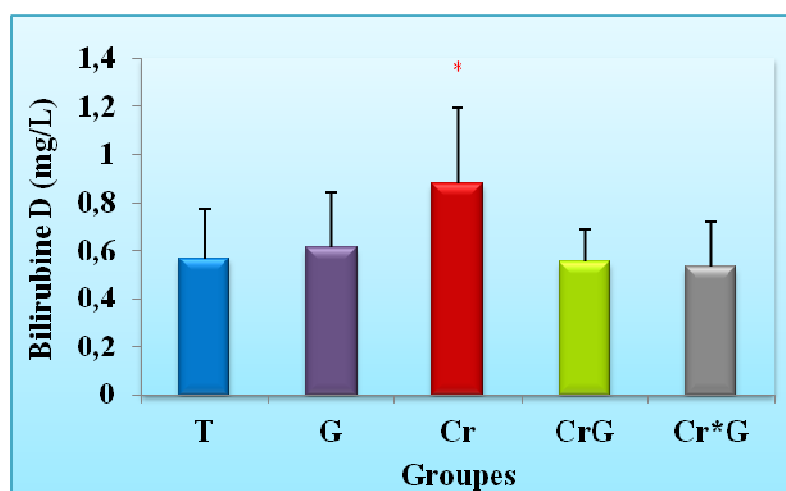
\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

\*\* ( $P < 0,01$ ) : Différence hautement significative comparant au témoin.



**Figure 33** : Variation de la concentration sérique en bilirubine totale (mg/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.



**Figure 34** : Variation de la concentration sérique en bilirubine directe (mg/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

➤ **Discussion :**

Nos résultats ont révélé une augmentation de l'activité enzymatique de l'ALAT, l'ASAT, la LDH et la PAL chez les rats traités par le dichromate de potassium (15 mg/kg). L'augmentation de l'activité des enzymes hépatiques dans le sang peut être due pratiquement à des lésions tissulaires dans le foie, les reins et le cœur ou en raison de modifications de la perméabilité de la membrane cellulaire ou également une augmentation de la synthèse ou une diminution du catabolisme des aminotransférases (Farag *et al.*, 2010). En outre, l'ASAT, l'ALAT, La LDH et La PAL sont les biomarqueurs les plus sensibles, directement impliqués dans l'étendue des dommages cellulaires et de la toxicité, car ils sont cytoplasmiques et libérés dans la circulation après l'atteinte cellulaire (Soudani *et al.*, 2011a). D'après Kaczor *et al.* (2005), les niveaux élevés de la LDH dans le plasma peuvent être attribués à une augmentation généralisée de la perméabilité membranaire, cela est dû à l'hépatotoxicité induite par le  $K_2Cr_2O_7$ . Cette hépatotoxicité est aussi démontrée dans notre étude par une augmentation des taux sériques de la bilirubine totale et directe. Ces résultats sont en accord avec les résultats d'El Demerdash *et al.* (2006) et Soudani *et al.* (2011b) qui ont suggéré que l'augmentation de la bilirubine sérique constitue un marqueur indiquant clairement le dysfonctionnement hépatique. Selon Frank *et al.* (2000), l'augmentation des concentrations de la bilirubine totale reflète probablement une stase biliaire ou aussi une vésicule biliaire distendue. De nombreuses études ont également démontré l'effet d'hépatotoxicité du chrome (Geetha *et al.*, 2003 ; Soudani *et al.*, 2011b). D'après les résultats obtenus, l'administration concomitante du gingembre et du chromate a réduit de manière significative l'activité enzymatique de l'ALAT, l'ASAT, la LDH et la PAL. Cela révèle la

capacité du gingembre administré simultanément avec le chromate d'atténuer les lésions hépatiques induites par ce dernier. Dans notre étude, le co-traitement avec le gingembre est efficace dans la prévention des dommages hépatiques causés par le  $K_2Cr_2O_7$ . Plusieurs études antérieures ont montré l'effet hépatoprotecteur des extraits de gingembre contre la toxicité hépatique induite par l'éthanol, le tétrachlorure de carbone, le bromobenzène et l'acétaminophène avec diminution significative des niveaux d'ALAT et d'ASAT (Yemitan et Izebu 2006 ; Ajith *et al.*, 2007b ; Mallikarjuna *et al.*, 2008 ; El-Sharaky *et al.*, 2009). En ce qui concerne le groupe (Cr\*G), les obtenus résultats ont montré que le gingembre a amélioré légèrement les effets toxiques du dichromate de potassium.

#### 2.3.4. Influence du traitement sur le profil lipidique :

##### ➤ Résultats :

D'après les résultats illustrés dans le tableau 13 et les figures (35-37), nous notons une diminution hautement significative des triglycérides ( $P < 0,01$ ) et significative du cholestérol ( $P < 0,05$ ) chez les rats alimentés par le régime qui contient le gingembre. L'exposition des rats au dichromate de potassium à 15 mg/kg du poids corporel provoque une augmentation très hautement significative des triglycérides, du cholestérol et des lipides totaux ( $P < 0,001$ ) en comparaison avec les rats témoins. Les résultats obtenus montrent aussi une augmentation significative du cholestérol ( $P < 0,05$ ), hautement significative des lipides totaux ( $P < 0,01$ ) et aucune différence significative des triglycérides chez le groupe traité par le dichromate de potassium et le gingembre (CrG), par rapport au groupe témoin. Chez les rats traités par la 2<sup>ème</sup> combinaison (Cr\*G), nous remarquons une augmentation

significative du cholestérol ( $P < 0,05$ ) et très hautement significative des triglycérides ( $P < 0,001$ ) tout en comparant aux rats témoins.

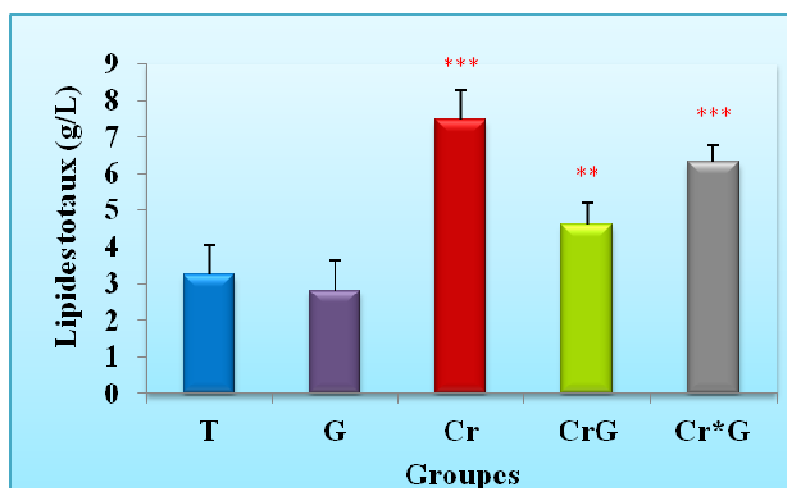
**Tableau 13** . Variation de la concentration sérique des lipides totaux, des triglycérides et du cholestérol chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD de 10 rats).

Paramètres (g/L)	Groupes				
	T	G	Cr	CrG	Cr*G
Lipides totaux	3,27 $\pm$ 0,84	2,81 $\pm$ 0,80	7,46 $\pm$ 0,82***	4,59 $\pm$ 0,59**	6,29 $\pm$ 0,49***
Triglycérides	1,32 $\pm$ 0,22	0,87 $\pm$ 0,18**	2,24 $\pm$ 0,24***	1,48 $\pm$ 0,34	1,57 $\pm$ 0,22*
Cholestérol	0,96 $\pm$ 0,14	0,76 $\pm$ 0,15*	1,50 $\pm$ 0,14***	1,11 $\pm$ 0,11*	1,18 $\pm$ 0,11**

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

\*\* ( $P < 0,01$ ) : Différence hautement significative comparant au témoin.

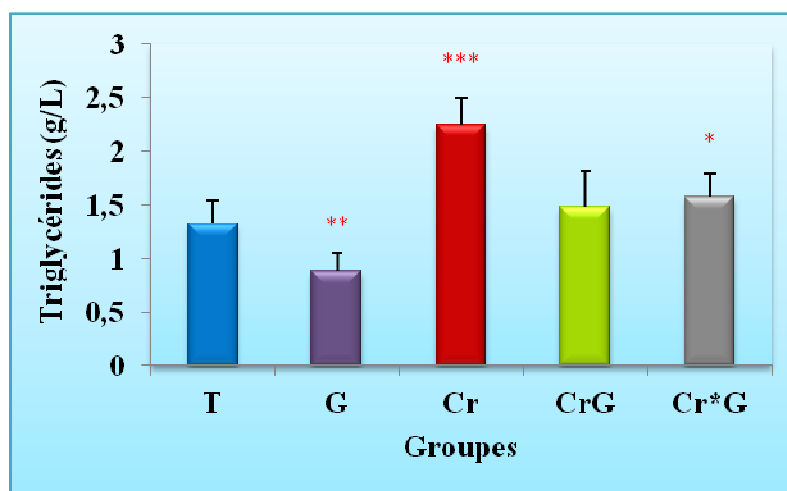
\*\*\* ( $P < 0,001$ ) : Différence très hautement significative comparant au témoin.



**Figure 35** : Variation de la concentration sérique en lipides totaux (g/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\*\* (P< 0,01) : Différence hautement significative comparant au témoin.

\*\*\* (P< 0,001) : Différence très hautement significative comparant au témoin.

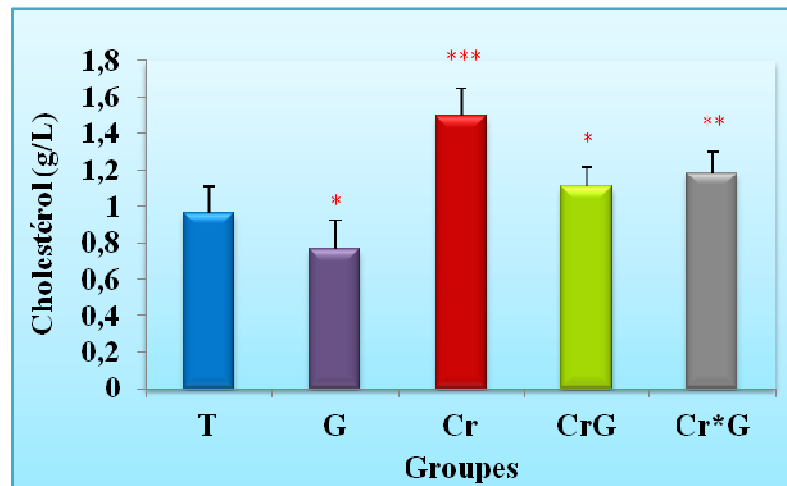


**Figure 36** : Variation de la concentration sérique en triglycérides (g/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* (P< 0,05) : Différence significative comparant au témoin.

\*\* (P< 0,01) : Différence hautement significative comparant au témoin.

\*\*\* (P< 0,001) : Différence très hautement significative comparant au témoin.



**Figure 37** : Variation de la concentration sérique du cholestérol (g/L) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

\*\* ( $P < 0,01$ ) : Différence hautement significative comparant au témoin.

\*\*\* ( $P < 0,001$ ) : Différence très hautement significative comparant au témoin.

### ➤ Discussion :

L'administration du dichromate de potassium cause une augmentation des taux au niveau du profil lipidique chez les rats. Les mêmes résultats sont obtenus par Soudani *et al.* (2011b), qui ont montré une augmentation des triglycérides et du cholestérol plasmatiques chez des rats femelles traitées par le  $K_2Cr_2O_7$  (700 ppm par voie orale) pendant 21 jours, cela peut être probablement expliqué par le stress oxydant induit par le dichromate de potassium. En outre, le traitement avec le gingembre a montré une diminution significative des concentrations sérique du cholestérol et des triglycérides. Il a été rapporté que le gingembre interfère avec les activités de certaines enzymes digestives. Chez des animaux diabétiques, ou qui ont une carence dans le gène de l'apolipoprotéine E, le gingembre réduit



significativement le cholestérol total et les triglycérides sériques (Fuhrman *et al.*, 2000 ; Thomson *et al.*, 2002). Il a été trouvé que le gingembre agit sur le foie pour réduire la biosynthèse du cholestérol et stimuler la conversion du cholestérol en bile et augmenter son excrétion fécale (Verma *et al.*, 2004). D'autre part, Han *et al.* (2005) ont démontré que l'extrait aqueux de gingembre inhibe l'hydrolyse de trioléine émulsionnée avec la phosphatidylcholine (lécithine) par la lipase pancréatique *in vitro* et réduit l'élévation du taux des triglycérides plasmatiques chez le rat après administration orale d'une émulsion lipidique contenant de l'huile de maïs. Leurs résultats suggèrent que l'extrait aqueux du gingembre peut inhiber l'absorption intestinale de la matière grasse en inhibant son hydrolyse. Cet effet anti-obésité peut être dû aux composés actifs contenant dans le gingembre. Les études d'Al-Amin *et al.* (2006) ont montré que le gingembre possède un effet hypolipédémique puissant. Cet effet est dû selon Ramakrishna Rao *et al.* (2003) à la stimulation de l'activité des lipases et des amylases par le gingembre. Il est évident que l'association du gingembre avec le dichromate de potassium à 15 mg/kg du poids corporels a réussi d'agir contre les perturbations induites par le chromate au niveau du profil lipidique, en diminuant le taux du cholestérol, des triglycérides et des lipides totaux, et en indiquant le rôle important des constituants du gingembre pour maintenir l'intégrité des tissus et de la fonction cellulaire.

## 2.4. Influence du traitement sur les paramètres du stress oxydant :

### 2.4.1. Influence du traitement sur le glutathion tissulaire :

#### ➤ Résultats :

D'après les résultats obtenus (tableau 14 et figures 38-43), aucune différence statistiquement significative n'est enregistrée chez les rats traités par le gingembre tout en comparant aux rats témoins. Chez les rats traités par le dichromate de potassium seul (Cr), nous constatons une diminution très hautement significative du taux du glutathion hépatique, rénal et intestinal ( $P < 0,001$ ). Aussi, une diminution hautement significative a été enregistrée au niveau du glutathion testiculaire et splénique ( $P < 0,01$ ), et significative au niveau du glutathion cardiaque ( $P < 0,05$ ) par rapport aux rats témoins. En outre, les rats traités par la combinaison (CrG) ne montrent pas de variations significatives du taux du GSH testiculaire, cardiaque et splénique. Cependant, nous remarquons une diminution significative ( $P < 0,05$ ) du taux du GSH hépatique, rénal et intestinal en comparaison aux rats témoins. Chez les rats traités par la 2<sup>ème</sup> combinaison (Cr\*G), nous notons une diminution significative ( $P < 0,05$ ) de la concentration du GSH testiculaire, intestinal, splénique, hépatique et rénal ( $P < 0,001$ ) par rapport aux rats témoins.

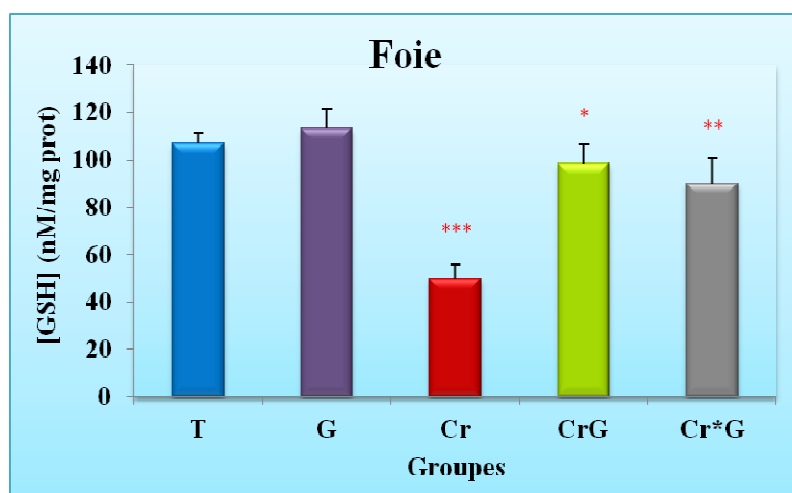
**Tableau 14** : Taux du glutathion (nM/mg prot) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) dans le foie, les reins, les testicules, les intestins, le cœur et la rate après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD de 10 rats).

GSH (nM/mg prot)	Groupes				
	T	G	Cr	CrG	Cr*G
<b>Foie</b>	106,86 $\pm$ 4,66	113,24 $\pm$ 8,51	49,54 $\pm$ 5,93***	98,33 $\pm$ 7,93*	90,20 $\pm$ 10,80**
<b>Reins</b>	98,69 $\pm$ 4,68	101,66 $\pm$ 6,61	36,33 $\pm$ 4,25***	90,10 $\pm$ 7,48*	85,83 $\pm$ 9,56**
<b>Testicules</b>	25,22 $\pm$ 2,39	28,00 $\pm$ 3,80	21,60 $\pm$ 1,13**	25,77 $\pm$ 2,33	22,12 $\pm$ 2,04*
<b>Intestins</b>	26,67 $\pm$ 3,10	27,21 $\pm$ 2,81	14,91 $\pm$ 2,68***	23,78 $\pm$ 2,54*	20,64 $\pm$ 3,43*
<b>Cœur</b>	60,02 $\pm$ 5,54	65,33 $\pm$ 7,30	59,49 $\pm$ 5,06*	63,40 $\pm$ 7,74	61,91 $\pm$ 5,14
<b>Rate</b>	25,46 $\pm$ 3,67	26,59 $\pm$ 3,93	21,08 $\pm$ 2,19**	24,72 $\pm$ 3,58	21,50 $\pm$ 4,11*

\* (P< 0,05) : Différence significative comparant au témoin.

\*\* (P< 0,01) : Différence hautement significative comparant au témoin.

\*\*\* (P< 0,001) : Différence très hautement significative comparant au témoin.

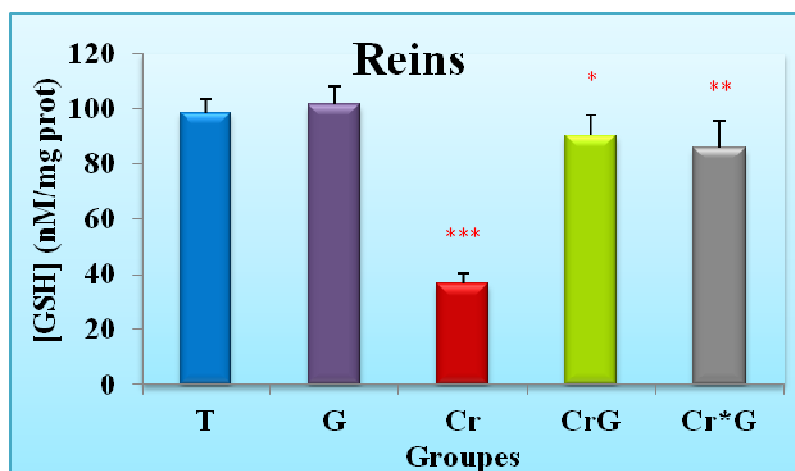


**Figure 38** : Variation de taux du glutathion tissulaire (nM/mg prot) dans le foie des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

\*\* ( $P < 0,01$ ) : Différence hautement significative comparant au témoin.

\*\*\* ( $P < 0,001$ ) : Différence très hautement significative comparant au témoin.



**Figure 39** : Variation de taux du glutathion tissulaire (nM/mg prot) dans les reins des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

\*\* ( $P < 0,01$ ) : Différence hautement significative comparant au témoin.

\*\*\* ( $P < 0,001$ ) : Différence très hautement significative comparant au témoin.

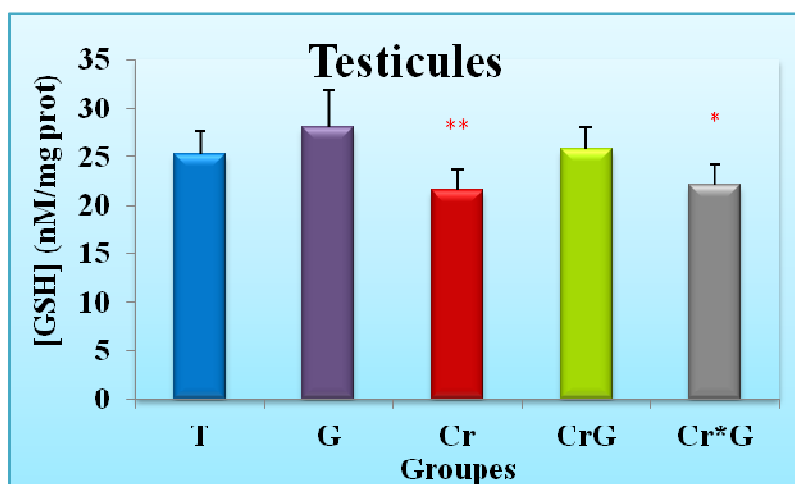


Figure 40 : Variation de taux du glutathion tissulaire (nM/mg prot) dans les testicules des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

\*\* ( $P < 0,01$ ) : Différence hautement significative comparant au témoin.

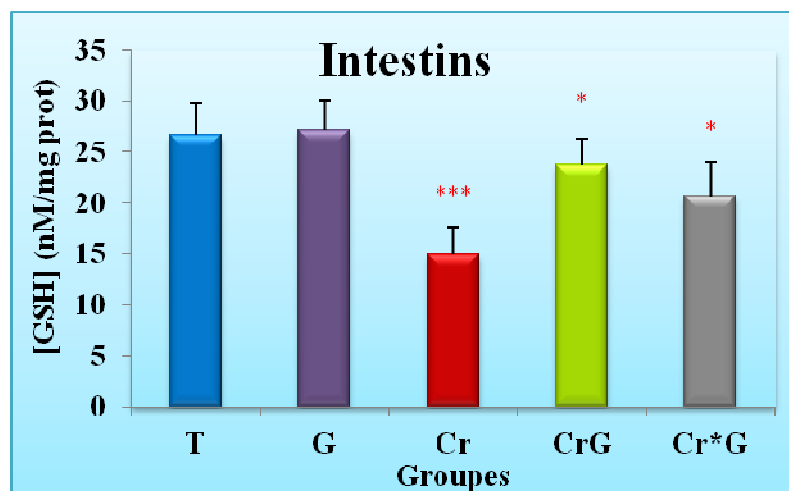


Figure 41 : Variation de taux du glutathion tissulaire (nM/mg prot) dans les intestins des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

\*\*\* ( $P < 0,001$ ) : Différence très hautement significative comparant au témoin.

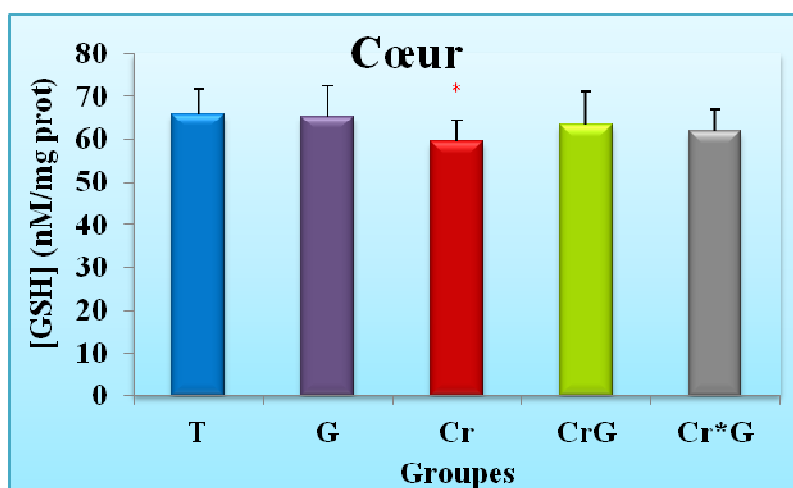


Figure 42 : Variation de taux du glutathion tissulaire (nM/mg prot) dans le cœur des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

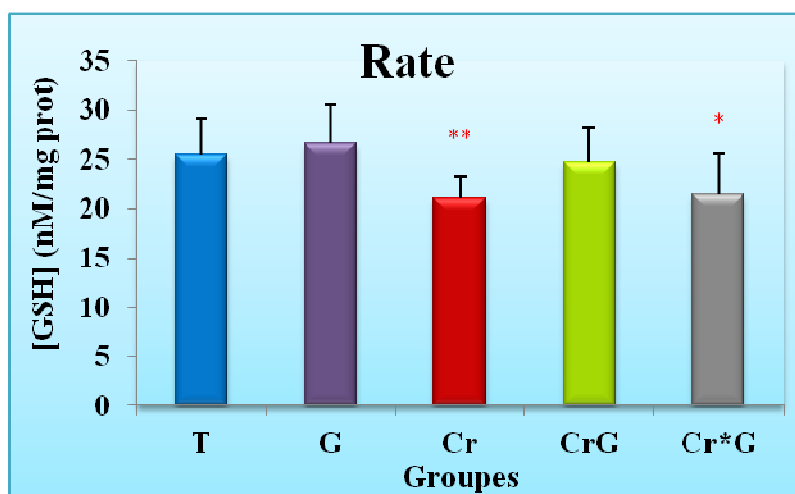


Figure 43 : Variation de taux du glutathion tissulaire (nM/mg prot) dans la rate des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

\*\* ( $P < 0,01$ ) : Différence hautement significative comparant au témoin.

➤ **Discussion :**

Le chrome est un métal toxique largement utilisé dans des différentes industries (Barceloux, 1999). Il favorise un stress oxydatif précoce et contribue par la suite au développement de diverses pathologies en raison de sa longue rétention dans certains tissus (Solis-Heredia *et al.*, 2000 ; Travacio *et al.*, 2001 ; Boşgelmez et Güvendik, 2004). Le stress oxydant dans les cellules ou les tissus se réfère à renforcer la production d'espèces réactives de l'oxygène et/ou la déplétion dans le système de défense antioxydante. Les ROS générés dans les tissus sont efficacement piégés par le système enzymatique antioxydant comme la GPx et la GR, ainsi que les antioxydants non enzymatiques comme le GSH, la vitamine A, C et E (Schlorff *et al.*, 1999). Le glutathion est le plus abondant thiol de basse masse moléculaire, il agit comme un antioxydant physiologique de protection dans des systèmes biologiques (Fatima et Mahmood, 2007). De même, le GSH est un élément crucial du mécanisme de défense antioxydante, fonctionne comme un capteur de radicaux libres réactifs direct (Romão *et al.*, 2006). Dans notre étude expérimentale, les résultats montrent une diminution significative des niveaux de glutathion dans tous les tissus étudiés chez les rats traités par le  $K_2Cr_2O_7$ . Le traitement des rats par le chrome suivi par le gingembre a montré une amélioration importante où le taux de GSH revient presque à la normale. La déplétion du taux de GSH est expliquée par la participation des organes étudiés, avec différents degrés, à l'élimination des métabolites toxiques résultant au cours de la dégradation des xénobiotiques tels que les peroxydes lipidiques et les électrophiles responsables des dommages tissulaires (Saka *et al.*, 2002). La diminution du taux de GSH hépatique chez les rats traités par le  $K_2Cr_2O_7$  est peut être dû à sa consommation dans le

processus de piégeage des radicaux libres produits par le  $K_2Cr_2O_7$  (Bagchi *et al.*, 1995 ; Gunaratnam et Grant, 2008). Nos résultats sont en accord avec les résultats obtenus par Anaud (2005) qui a démontré que l'exposition orale des rats au  $K_2Cr_2O_7$  (100 mg/kg) a entraîné une diminution significative du taux de GSH hépatique. Aussi, l'administration du dichromate de potassium (15 mg/kg) a causé une diminution du taux de GSH rénal. Les mêmes résultats sont obtenus par Soudani *et al.* (2010), qui ont constaté une diminution significative du taux du GSH rénal après administration du  $K_2Cr_2O_7$  via l'eau de boisson (67 mg/kg du poids corporel), cette diminution peut s'expliquer par une réponse adaptative au stress oxydant. Une déplétion en GSH au niveau du tissu cardiaque a été aussi observée. Les mêmes constatations ont été faites par Soudani *et al.* (2011a) qui ont démontré une diminution significative du taux du GSH cardiaque, après le traitement avec le  $K_2Cr_2O_7$ .

Après avoir introduit dans le corps par voie orale, il existe des mécanismes importants de détoxification de Cr (VI). Initialement, le Cr (VI) peut être réduit en Cr (III) par des fluides dans le tube digestif (la salive et le suc gastrique), et alors il peut être séquestré par les bactéries intestinales (Nudler *et al.*, 2009). La diminution des niveaux du glutathion dans le tissu intestinal est peut être expliquée par la consommation du GSH dans ces mécanismes de détoxification. Nos résultats ont montré que le gingembre, donné simultanément avec le potassium dichromate, semble jouer un rôle clé dans l'atténuation des dommages causés par le  $K_2Cr_2O_7$ . Ces résultats sont en accord avec des études précédentes démontrant l'effet protecteur du gingembre contre le stress oxydant (Ajith *et al.*, 2007a ; Mallikarjuna *et al.*, 2008 ; Amarnath Reddy *et al.*, 2011). L'augmentation des niveaux de glutathion tissulaire chez les rats traités par la combinaison (CrG) peut être expliquée par



l'activité antioxydante du gingembre. Nos résultats suggèrent que le gingembre possède une activité antioxydante reposant sur l'élimination des radicaux libres et la restauration de la balance oxydants/antioxydants durant la toxicité induite par le chromate. Beaucoup d'études ont été faites sur l'activité antioxydante du gingembre, qui agit en diminuant la peroxydation des lipides, augmentant les niveaux du glutathion et maintenant les taux normaux des enzymes antioxydantes (Ahmed *et al.*, 2008 ; El-Sharaky *et al.*, 2009 ; Jittiwat et Wattanathorn, 2012). De nombreuses recherches ont rapporté que le [6]-gingérol, les tanins et autres composés polyphénoliques (flavonoïdes et triterpénoïdes) du gingembre ont des propriétés antioxydantes dans des différents modèles expérimentaux (Young *et al.*, 2005 ; Afshari *et al.*, 2007 ; Stoilova *et al.*, 2007 ; Dugasani *et al.*, 2010).

#### 2.4.2. Influence du traitement sur le malondialdéhyde :

##### ➤ Résultats :

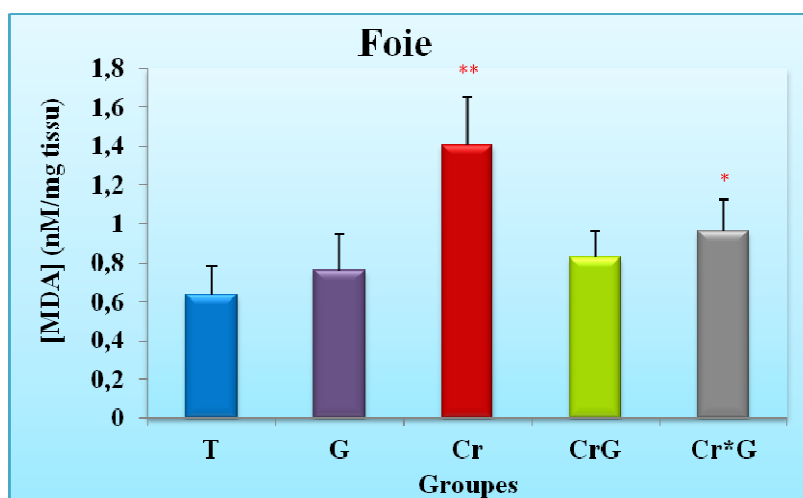
D'après les résultats illustrés dans le tableau 15 et les figures (44-45), nous observant une augmentation hautement significative du taux du MDA hépatique et rénal ( $P < 0,01$ ), chez les rats traités par le dichromate de potassium (Cr) par rapport aux rats témoins, tandis que les rats traités par le gingembre et la combinaison (CrG) ne montrent pas de variations significatives du taux du MDA dans les deux organes étudiés (foies et reins) en comparaison aux rats témoins. Chez les rats traités par la 2<sup>ème</sup> combinaison (Cr\*G), nous notons une augmentation significative du MDA au niveau du foie et de reins ( $P < 0,05$ ), par rapport aux rats témoins.

**Tableau 15** : Taux du malondialdéhyde (nM/mg de tissu) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) dans le foie et les reins après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD de 10 rats).

MDA (nM/mg tissu)	Groupes				
	T	G	Cr	CrG	Cr*G
<b>Foie</b>	0,63 $\pm$ 0,15	0,76 $\pm$ 0,18	1,40 $\pm$ 0,25**	0,82 $\pm$ 0,14	0,96 $\pm$ 0,15*
<b>Reins</b>	0,76 $\pm$ 0,16	0,54 $\pm$ 0,14	1,13 $\pm$ 0,11**	0,84 $\pm$ 0,16	0,99 $\pm$ 0,08*

\* (P< 0,05) : Différence significative comparant au témoin.

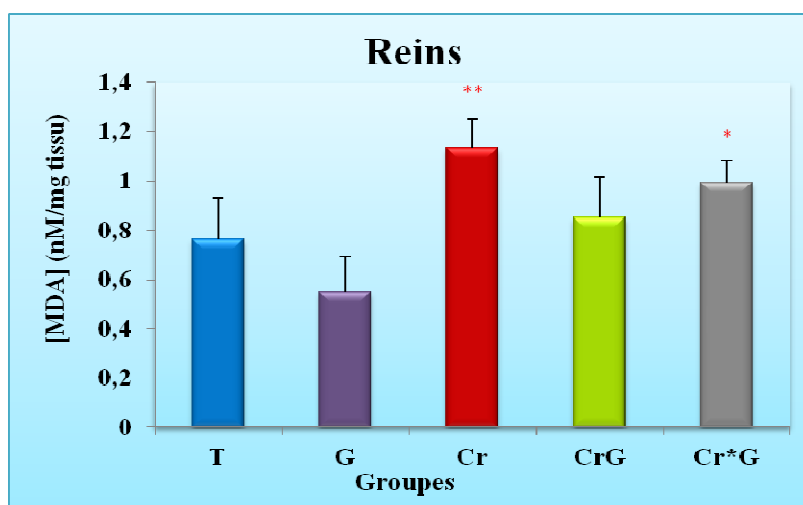
\*\* (P< 0,01) : Différence hautement significative comparant au témoin.



**Figure 44** : Variation du taux de MDA tissulaire (nM/mg de tissu) dans le foie des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* (P< 0,05) : Différence significative comparant au témoin.

\*\* (P< 0,01) : Différence hautement significative comparant au témoin.



**Figure 45** : Variation du taux de MDA tissulaire (nM/mg de tissu) dans les reins des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

\*\* ( $P < 0,01$ ) : Différence hautement significative comparant au témoin.

### ➤ Discussion :

La peroxydation lipidique étant l'effet le plus anciennement connu des radicaux libres et le plus simple à mesurer, les dérivés de l'oxydation lipidique sont les composés les plus souvent étudiés lorsque l'on recherche un stress oxydant (Goudable et Favier, 1997). Le stress oxydant est caractérisé par les ROS qui induisent la peroxydation lipidique, le MDA est un produit secondaire généré au cours de l'oxydation des acides gras polyinsaturés. (Misra *et al.*, 2009). La peroxydation lipidique contient une série de processus de réaction en chaîne radicalaires libres et est également associée à plusieurs types de dommages biologiques. Le rôle des radicaux libres et des ROS est de plus en plus reconnu dans la pathogenèse de nombreuses maladies humaines, y compris le cancer, le vieillissement et

l'athérosclérose (Gülçin *et al.*, 2010). La peroxydation lipidique est aujourd'hui reconnue comme une réaction extrêmement importante dans les processus physiologiques et toxicologiques. Les hydroperoxydes lipidiques formées par l'attaque des radicaux libres sur les résidus d'acides gras polyinsaturés des phospholipides peuvent encore réagir avec les métaux redox (comme  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ), produisant finalement un malondialdéhyde mutagène et cancérigène (Scibior *et al.*, 2006). Dans notre étude, nous avons noté une augmentation des niveaux du MDA hépatique et rénal après l'administration du  $K_2Cr_2O_7$ . Parveen *et al.* (2009) ont montré que l'administration de dichromate de potassium provoque un stress oxydant révélé par l'augmentation du MDA qui est un marqueur de la peroxydation lipidique. Les mêmes résultats ont été obtenus par Soudani *et al.* (2010) et Soudani *et al.* (2011b). Ils suggèrent que le traitement des rats par le  $K_2Cr_2O_7$  a induit une augmentation du taux du MDA au niveau de tissu hépatique et rénal. Nos résultats montrent que le traitement avec le gingembre pourrait empêcher l'altération induite par le chrome, probablement par l'élimination des toxiques à partir du corps ou d'encapsulation du Cr (VI), empêchant ainsi la poursuite des dommages provoqués par ce métal. Les épices et les herbes sont reconnus comme des sources d'antioxydants naturels et jouent ainsi un rôle important dans la prévention des maladies résultant de la peroxydation lipidique. La présence des polyphénols et des flavonoïdes dans le gingembre pourrait être responsable de l'activité antioxydante et l'activité néphroprotectrice (Ajith *et al.*, 2007a) et hépatoprotectrice (Ajith *et al.*, 2007b). Heeba et Abd-Elghany (2010) ont démontré l'effet protecteur du gingembre sur la peroxydation lipidique après l'administration d'atorvastatine révélé par une diminution du taux de MDA. L'alcool éthylique a augmenté de manière significative les taux de MDA

dans le tissu hépatique chez les rats traités par l'éthanol. Cependant, le traitement des rats avec 1 % gingembre alimentaire pendant 4 semaines a réduit les effets de l'alcool, cela suggère le rôle protecteur du gingembre (Mallikarjuna *et al.*, 2008). Shati et Elsaid (2009) dans leurs études ont constaté une augmentation des taux du MDA hépatique et cérébral des souris. Toutefois, ces changements ont été significativement améliorés par l'extrait du gingembre. L'administration du lindane aux rats mâles albinos a provoqué une peroxydation lipidique chez les rats recevant un régime alimentaire normal. Mais chez ces rats, la supplémentation du gingembre dans le régime alimentaire a atténué cette peroxydation lipidique (Ahmed *et al.*, 2008).

#### 2.4.3. Influence du traitement sur l'activité des enzymes antioxydantes (GPx, GST et CAT) :

##### ➤ Résultats :

Le dosage de l'activité enzymatique des enzymes antioxydantes (CAT, GPx et GST) a fourni les résultats du tableau 16 et des figures 46-51. Les résultats montrent une diminution hautement significative de l'activité de la CAT et la GPx ( $P < 0,01$ ), au niveau du tissu hépatique et rénale chez les rats traités par le dichromate de potassium (15 mg/kg) tout en comparant aux rats témoins. En revanche, nous n'enregistrons aucune différence statistiquement significative de l'activité enzymatique de toutes les enzymes (CAT, GPx et GST) chez les rats traités par le gingembre (G) et les rats traités par le dichromate de potassium (15 mg/kg) et le gingembre (CrG) par rapport aux rats témoins. Chez le groupe

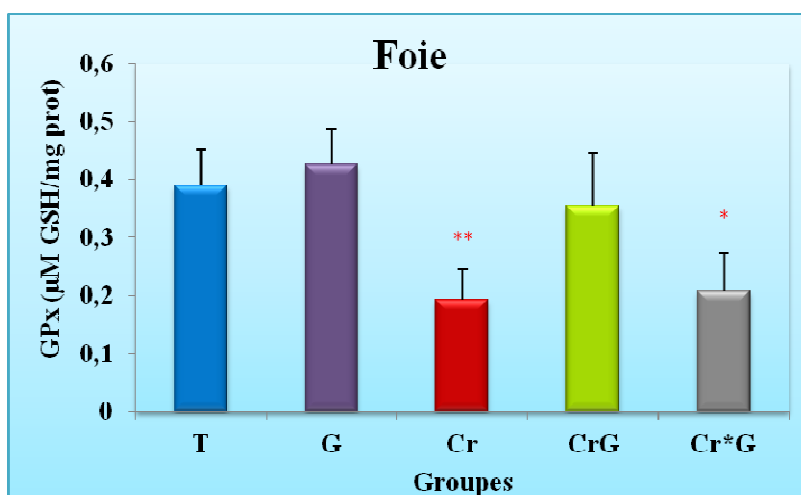
traité par la 2<sup>ème</sup> combinaison (Cr\*G), nous notons une diminution significative de l'activité de la CAT et de la GPx ( $P < 0,05$ ) dans le tissu hépatique et aucun changement significatif dans le tissu rénale, en comparaison au groupe témoin. En ce qui concerne l'activité enzymatique de la GST hépatique et rénale, nos résultats révèlent une augmentation significative ( $P < 0,05$ ) chez le groupe traités par le  $K_2Cr_2O_7$  (Cr) par rapport au groupe témoin. Tandis que chez les autres groupes (G, CrG et Cr\*G), aucune différence significative n'a été enregistrée.

**Tableau 16 :** Activité enzymatique de la glutathion peroxydase ( $\mu\text{M}$  GSH/mg prot), la glutathion S-transférase (nM GSH-CDNB/min/mg prot) et la catalase ( $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ /min/mg prot) chez les rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) dans le foie et les reins après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD de 10 rats).

Paramètres	Organes	Groupes				
		T	G	Cr	CrG	Cr*G
GPx ( $\mu\text{M}$ GSH/mg prot)	Foie	0,38 $\pm$ 0,06	0,42 $\pm$ 0,06	0,19 $\pm$ 0,05**	0,35 $\pm$ 0,09	0,20 $\pm$ 0,06*
	Reins	0,93 $\pm$ 0,11	0,44 $\pm$ 0,09	0,25 $\pm$ 0,01*	0,41 $\pm$ 0,08	0,99 $\pm$ 0,08
GST (nM GSH-CDNB/min/mg prot)	Foie	0,30 $\pm$ 0,07	0,30 $\pm$ 0,08	0,42 $\pm$ 0,05*	0,34 $\pm$ 0,06	0,35 $\pm$ 0,03
	Reins	0,26 $\pm$ 0,07	0,30 $\pm$ 0,06	0,44 $\pm$ 0,05*	0,30 $\pm$ 0,05	0,31 $\pm$ 0,09
CAT ( $\mu\text{M}$ $\text{H}_2\text{O}_2$ /min/mg prot)	Foie	3,46 $\pm$ 0,51	3,20 $\pm$ 0,59	1,85 $\pm$ 0,55**	2,52 $\pm$ 0,87	2,49 $\pm$ 0,69*
	Reins	1,60 $\pm$ 0,28	1,78 $\pm$ 0,28	1,00 $\pm$ 0,25*	1,50 $\pm$ 0,27	1,21 $\pm$ 0,36

\* (P < 0,05) : Différence significative comparant au témoin.

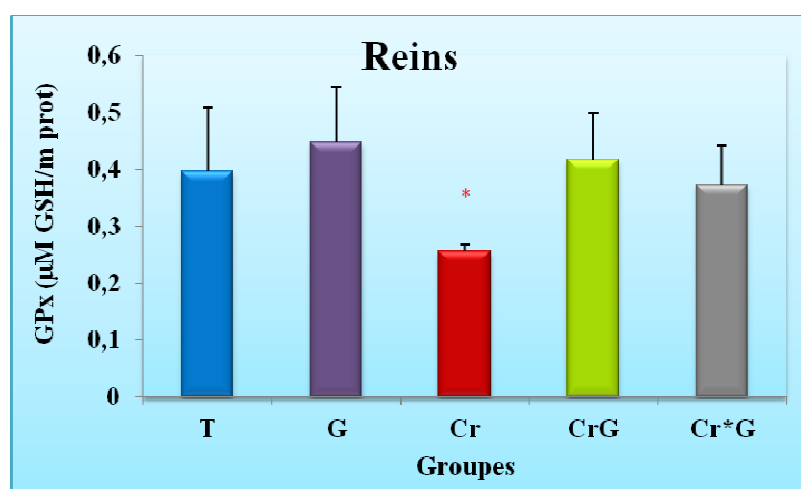
\*\* (P < 0,01) : Différence hautement significative comparant au témoin.



**Figure 46** : Variation de l'activité enzymatique de la GPx ( $\mu\text{M GSH/mg prot}$ ) dans le foie des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

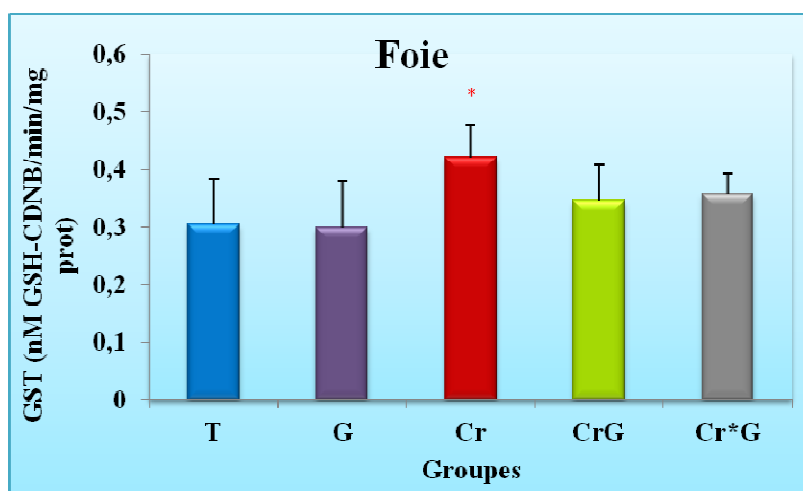
\*\* ( $P < 0,01$ ) : Différence hautement significative comparant au témoin.



**Figure 47** : Variation de l'activité enzymatique de la GPx ( $\mu\text{M GSH/mg prot}$ ) dans les reins des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

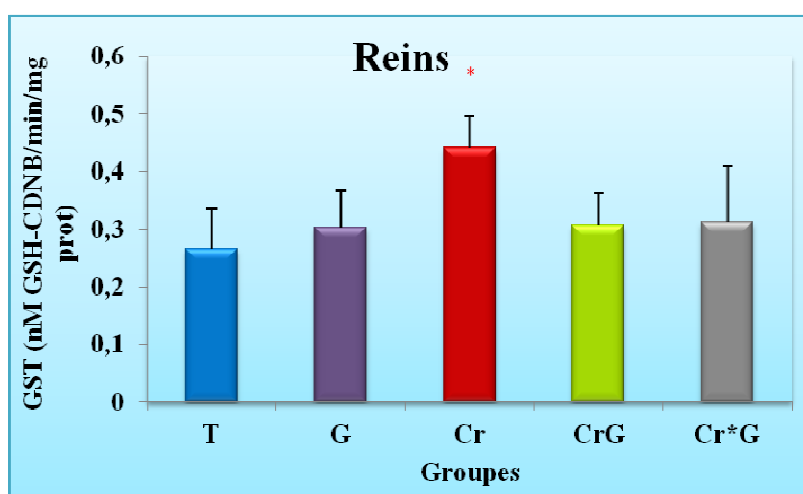
\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.





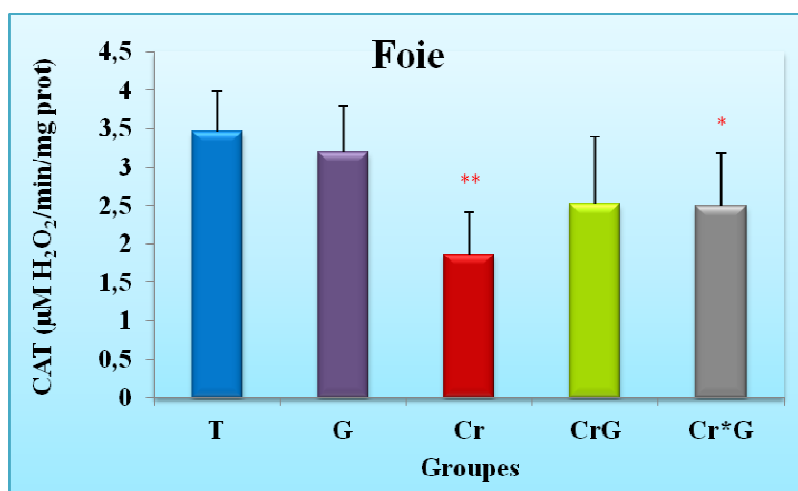
**Figure 48 :** Variation de l'activité enzymatique de la GST (nM GSH-CDNB/min/mg prot) dans le foie des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.



**Figure 49 :** Variation de l'activité enzymatique de la GST (nM GSH-CDNB/min/mg prot) dans les reins des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

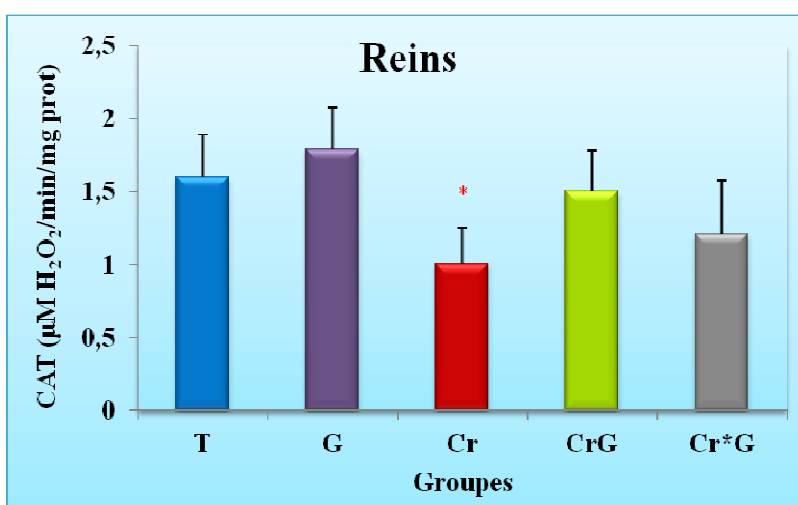
\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.



**Figure 50** : Variation de l'activité enzymatique de la CAT ( $\mu\text{M H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg prot}$ ) dans le foie des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

\*\* ( $P < 0,01$ ) : Différence hautement significative comparant au témoin.



**Figure 51** : Variation de l'activité enzymatique de la CAT ( $\mu\text{M H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg prot}$ ) dans les reins des rats témoins (T) et traités (G ; Cr ; CrG ; Cr\*G) après 30 jours de traitement.

\* ( $P < 0,05$ ) : Différence significative comparant au témoin.

➤ **Discussion :**

Puisque le dichromate de potassium ( $K_2Cr_2O_7$ ) est connu pour provoquer un stress oxydant dans les cellules, plusieurs paramètres indiquant le statut antioxydant ont également été examinés. Le stress oxydant dans la cellule peut être induit soit par une production accrue de ROS ou l'inhibition du système de défense antioxydant. Cet équilibre entre la production et le catabolisme des oxydants est essentiel pour le maintien de l'intégrité biologique des tissus (Fatima et Mahmood, 2007). Les enzymes antioxydantes (SOD, GPx et CAT) limitent les effets des molécules oxydantes dans les tissus et jouent un rôle dans la défense contre les dommages oxydatifs cellulaires étant piègeurs de radicaux libres (Gutteridge, 1995). La glutathion peroxydase, la superoxyde dismutase et la catalase constituent mutuellement une équipe de soutien de défense contre les ROS (Ahmed *et al.*, 2008 ; Soudani *et al.*, 2011b). De petites déviations dans les concentrations physiologiques pourraient avoir des effets considérables sur la résistance des lipides cellulaires, des protéines et de l'ADN aux dommages oxydatifs (Bagchi *et al.*, 2002). Nos résultats ont montré une diminution de l'activité de la GPx et la CAT (hépatique et rénale) et une augmentation de l'activité de la GST chez les rats traités par le  $K_2Cr_2O_7$  (15 mg/kg). Étant donné que ces enzymes ont un rôle protecteur contre les dommages induits par les radicaux libres, leur induction pourrait être comprise comme une réponse adaptative au stress oxydant (Soudani *et al.*, 2011a). La diminution dans les activités de la GPx et la CAT chez les rats traités par le  $K_2Cr_2O_7$  dans notre étude peut être due à l'accumulation intracellulaire des ROS, la même explication a été donnée par Kalayarasan *et al.* (2008). Selon Pigeolet *et al.* (1990), la diminution de l'activité enzymatique de la catalase peut refléter une réduction de

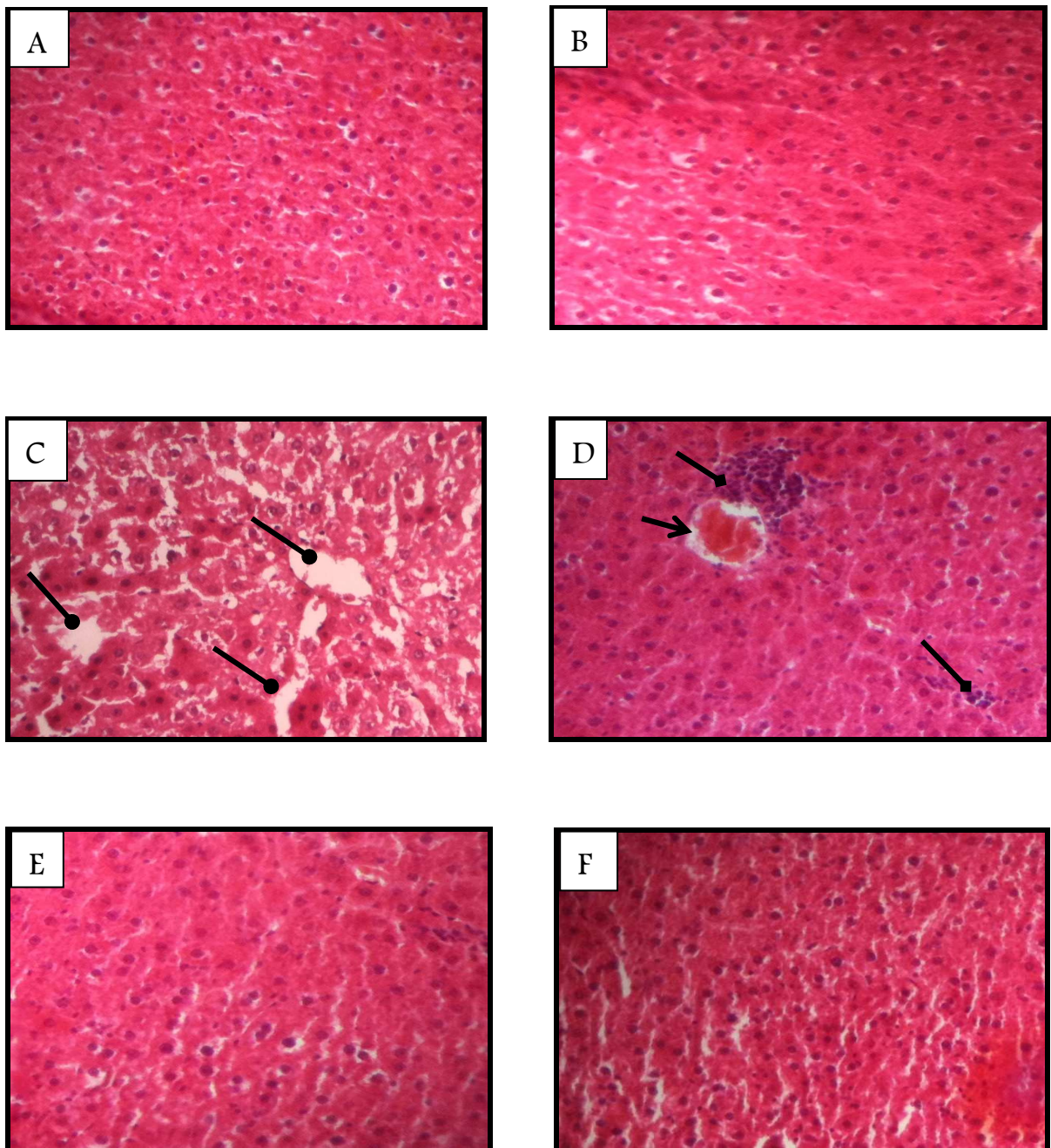
la capacité des mitochondries et des microsomes d'éliminer le  $H_2O_2$  produit en réponse au chrome. Pendant le processus de réduction de Cr (VI), le GSH réduit directement le Cr (VI) étant ainsi lui-même oxydé en GSSG. Il peut également être oxydé par réaction avec des radicaux tels que les ROS, qui sont générés à la suite de la réduction de Cr (VI). Lorsque le GSSG est formé dans les cellules, il est normalement recyclé en GSH par l'activité de la GR (Lalaoui *et al.*, 2007). Le cycle d'oxydoréduction du glutathion fait intervenir deux enzymes essentielles (Shati et Elsaid, 2009) : la glutathion réductase (GR) qui transforme le glutathion oxydé (GSSG) en sa forme réduite (GSH) et la glutathion peroxydase (GPx), qui active la réaction de transformation des hydroperoxydes en alcools primaires. Ce système enzymatique contient également la glutathion S-transférase (GST) qui catalyse la réaction de conjugaison entre le glutathion réduit (GSH) et les substances étrangères (xénobiotiques, carcinogènes et composés électrophiles...etc.) (Aouacheri *et al.*, 2009) avec la formation des métabolites glutathion-conjugués (Ahmed *et al.*, 2008). Nos résultats sont en accord avec des études précédentes qui ont démontré une altération de l'activité antioxydante des enzymes étudiées après l'administration du  $K_2Cr_2O_7$  (Kalayarasan *et al.*, 2008 ; Nudler *et al.*, 2009 ; Soudani *et al.*, 2010 ; Soudani *et al.*, 2011b). Nous avons observé une restauration des activités des enzymes antioxydantes chez les rats traités par le chromate après la co-administration du gingembre (CrG), ce qui suggère l'effet protecteur de cette plante contre les dommages oxydatifs induits par les métaux lourds. L'augmentation des activités des enzymes antioxydantes peut servir de mécanisme de compensation supplémentaire pour maintenir l'intégrité de la cellule et la protection contre les dommages des radicaux libres. Cela peut être dû à la présence de nombreux composés antioxydants comme les gingérols,

les shogaols, les dérivés phénoliques, les huiles volatiles, et les flavonoïdes dans le gingembre. Ces composés antioxydants peuvent moduler l'activité des enzymes antioxydantes (Young *et al.*, 2005 ; Shanmugam *et al.*, 2011). Ces résultats sont en accord avec des études précédentes démontrant l'effet de neutralisation des radicaux libres et l'action inhibitrice du gingembre sur la production des anions superoxyde dans le foie et les reins (Ajith *et al.*, 2007a ; Ajith *et al.*, 2007b ; Stoilova *et al.*, 2007; Mallikarjuna *et al.*, 2008) en augmentant l'activité des enzymes antioxydantes (SOD, CAT et GPx). Des études antérieures ont démontré l'activité importante de piégeage de radicaux libres de l'extrait du gingembre *in vitro* (Kikuzaki et Nakatani, 1993 ; Masuda *et al.*, 2004). Il a été découvert que l'éthanol inhibe considérablement l'activité des enzymes antioxydantes (SOD, GR, CAT et GPx) dans le tissu hépatique chez les rats traités par l'éthanol. Cependant, le traitement des rats avec 1 % de gingembre alimentaire pendant 4 semaines a pu diminué les effets toxiques de l'éthanol, suggérant ainsi le rôle protecteur du gingembre (Mallikarjuna *et al.*, 2008). Nos résultats concordent aussi à ceux trouvés par El-Sharaky *et al.* (2009) qui ont constaté que le bromobenzène (BB) diminue de manière significative les activités de la SOD et la GPx et accroît les activités de la GR et de la GST. Toutefois, avant le traitement par le BB, un prétraitement avec des doses différentes de gingembre a atténué les effets toxiques provoqués par le BB chez les rats.

## 2.5. Influence du traitement sur l'histologie :

### ➤ Résultats :

**a. Coupes histologiques hépatiques :** l'observation microscopique des coupes histologiques hépatiques des rats révèle une structure normale du foie chez les témoins (Figure 52A). L'aspect histologique du foie est normal chez les rats traités par le gingembre seul (figure 52B). L'exposition des rats au dichromate de potassium a induit des modifications dégénératives dans le foie. En fait, le  $K_2Cr_2O_7$  a provoqué une dilatation du parenchyme (figure 52C) ainsi qu'une congestion cellulaire (figure 52D). Une vacuolisation des hépatocytes était également évidente dans le groupe traité par le dichromate de potassium (figure 52D). Les dommages sévères du foie ont radicalement diminué lorsque le gingembre a été additionné dans l'alimentation chez les rats du groupe (CrG) (figure 52D) avec un moindre degré chez les rats du groupe (Cr\*G) (figure 52E) en comparaison avec le groupe témoin.



**Figure 52** : Coupes histologiques du foie des rats témoins (T [A]) et traités (G [B]; Cr [C, D] ; CrG [E] ; Cr\*G [F]) après 30 jours de traitement : ( —● ) dilatation du parenchyme, ( —◆ ) congestion cellulaire, ( —→ ) vacuolisation des hépatocytes (x 100).

**b. Coupes histologiques rénales :** l'observation microscopique des coupes histologiques rénales des rats du groupe témoin a montré un parenchyme rénal normal avec des glomérules et des tubules bien définis (figure 53A). Aussi, il n'y avait pas d'altérations histologiques rénales chez les rats traités par le gingembre par rapport aux témoins (figure 53B). Une vacuolisation dans les cellules épithéliales des tubules proximaux, une dilatation tubulaire (figure 53C), et une hémorragie intra-glomérulaire (figure 53D) ont été clairement observées dans les reins des rats traités par le  $K_2Cr_2O_7$ . En outre, une diminution de la congestion des vaisseaux sanguins, montrant un grand espace de Bowman (figure 53D), a été observée dans les sections rénales de ce groupe. L'examen microscopique a révélé des lésions pathologiques induites par le  $K_2Cr_2O_7$ , qui étaient remarquablement réduites par l'administration du gingembre dans le régime alimentaire chez le groupe (CrG) (Figure 53E). La figure 53F montre une régénération moins remarquable du tissu rénal chez les rats du groupe (Cr\*G).



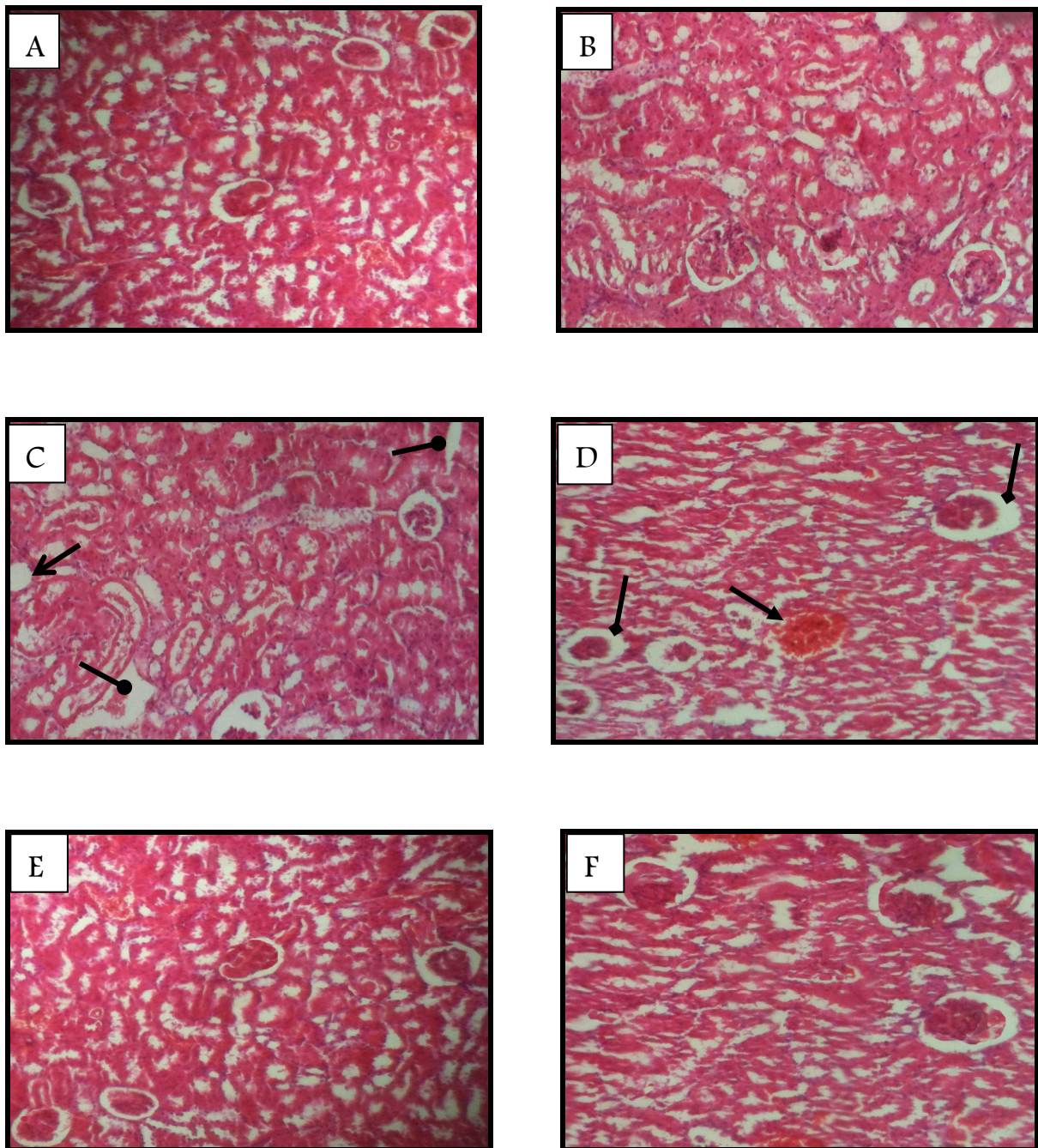


Figure 53 : Coupes histologiques des reins des rats témoins (T [A]) et traités (G [B]; Cr [C, D]; CrG [E]; Cr\*G [F]) après 30 jours de traitement : ( → ) vacuolisation, ( —● ) dilatation, ( —→ ) hémorragie, ( —→ ) grand espace de Bowman (x 100).

➤ **Discussion :**

Dans notre étude l'administration du dichromate de potassium aux rats a provoqué des dommages oxydatifs accompagnés par des changements histologiques. Chez les rats traités par le  $K_2Cr_2O_7$ , une altération notable de l'ultra-structure a été observée, ce qui pourrait être dû à la production excessive des radicaux libres. De plus, les résultats de l'étude histologique confirment les observations biochimiques constatées au niveau du foie et des reins. En fait,  $K_2Cr_2O_7$  a causé une congestion, une dilatation du parenchyme, et une vacuolisation des hépatocytes. Des changements similaires dans le tissu hépatique chez les rats ont été rapportés par des recherches antérieures de Kalayarasan *et al.* (2008) et Soudani *et al.* (2011b). Ces modifications peuvent être les résultats de lésions membranaires induites par le chrome. En effet, ce métal favorise un stress oxydant. Ensuite, il contribue à l'élaboration de divers aspects pathologiques dans les organes cibles, y compris le foie. L'administration concomitante du gingembre augmenté avec le dichromate de potassium a pu régénérer la structure du foie. Nos résultats suggèrent que le gingembre pourrait réduire les lésions hépatiques induites par le  $K_2Cr_2O_7$ . L'effet protecteur du gingembre contre les agents induisant des lésions du tissu hépatique a été précédemment démontré (Ajith *et al.*, 2007b ; Heeba et Abd-Elghany, 2010 ; Ramudu *et al.*, 2011). Les paramètres biochimiques sont corrélés également avec l'étude histologique rénale. En fait, l'histologie rénale des rats traités par le  $K_2Cr_2O_7$  a présenté une dilatation, due probablement à la formation des radicaux libres et à la suite de la peroxydation lipidique induite par le  $K_2Cr_2O_7$ . Ainsi, les hydroperoxydes accumulés dans les reins pourraient causer une néphrotoxicité associée à une peroxydation des phospholipides membranaires. Les mêmes constatations ont été faites

par Parveen *et al.* (2009) et Soudani *et al.* (2010), qui ont observés une altération de l'histologie rénale après le traitement par le dichromate de potassium. L'administration du gingembre avec le  $K_2Cr_2O_7$  chez les rats a amélioré les altérations histologiques induites par le dichromate de potassium, cela peut être attribué à l'efficacité anti-radicalaire du gingembre. Cette plante a radicalement réduit le stress oxydant provoqué par le chrome, permettant la diminution des altérations histologiques et la restauration de l'état physiologique normal de l'organisme. Il a été précédemment démontré que le gingembre est bénéfique dans la restauration des dommages tissulaires dans le rein de rat (Ajith *et al.*, 2007a ; Ramudu *et al.*, 2011).

L'importance des antioxydants (gingembre) dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates

# CONCLUSION ET PERSPECTIVES

## **Conclusion et perspectives.**

A notre connaissance, cette étude a été la première à évaluer l'effet protecteur du gingembre sur la cytotoxicité induite par le chrome. L'administration du dichromate de potassium à 15 mg/kg *per os* aux rats pendant 30 jours a provoqué une perturbation métabolique révélée par l'apparition des atteintes de la fonction rénale, hépatique, hématologique, ainsi que le profil lipidique. Cette perturbation est associée à une altération structurale du foie et des reins. De plus, le statut antioxydant a été affecté, suggérant ainsi un stress oxydant généré par le chrome, qui a troublé la capacité défensive de l'organisme. L'association du gingembre avec le chrome a fait diminuer le niveau de la toxicité, en modulant les niveaux des biomarqueurs de stress oxydant, et en régulant l'activité des enzymes antioxydantes. Cette combinaison a aussi révélé une amélioration du métabolisme biochimique, hématologique et l'histologie. Les résultats obtenus peuvent être résumés dans les points suivants :

- ❖ L'étude physiologique montre que la croissance des rats n'a pas été influencée par le traitement. Cependant, une augmentation des indices hépato et réno-somatiques chez les rats traités par le chrome a été enregistrée. L'association au gingembre a amélioré ces changements.
- ❖ La toxicité du chrome n'a pas affecté la glycémie. L'association n'a également pas reflété une influence sur ce paramètre.
- ❖ Le traitement par le dichromate de potassium a induit une hématotoxicité, reflétée par une diminution des globules rouges, d'hémoglobine, d'hématocrites et du volume globulaire moyen. L'addition du gingembre a amélioré les changements hématologiques, en témoignant l'effet protecteur de cet ingrédient alimentaire.

- ❖ Une perturbation du métabolisme biochimique après le traitement par le chrome a été révélée par l'augmentation des taux sériques en : urée, créatinine, acide urique, cholestérol, triglycérides, lipides totaux et la bilirubine totale et direct, ainsi que l'augmentation de l'activité enzymatique des : ASAT, ALAT, LDH et PAL. La supplémentation du gingembre a considérablement réduit cette perturbation, ceci montre son effet protecteur.
- ❖ Le dosage des biomarqueurs du stress oxydant (GSH, MDA) et des enzymes antioxydantes (GPX, GST, CAT) a permis une meilleure caractérisation de l'effet antioxydant du gingembre vis-à-vis la toxicité du chrome.
- ❖ Une altération structurale du tissu hépatique est rénale a été observée après le traitement des rats par le chrome. Le gingembre en association avec le chrome a protégé la structure tissulaire des organes, ce qui peut certifier l'effet protecteur du gingembre.

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence l'action protectrice du gingembre et sa capacité à moduler les effets toxiques causés par le chrome.

Cette recherche nécessite d'autres études approfondies pour mieux se concentrer sur les effets révélés. Il serait souhaitable de développer cette étude en mesurant d'autres paramètres du statut antioxydant (SOD, Vitamine E, Vitamine C,...). Il serait intéressant aussi de déterminer la distribution et la concentration du chrome dans le sang, les urines et quelques organes cibles (en particulier le foie et les reins). Des études à l'échelle moléculaire sont nécessaires pour déterminer d'une part les composés actifs du gingembre, et d'autre part le mécanisme par lequel ces composés accomplissent leur rôle.

Les plantes aromatiques et médicinales sont la source de la majorité des antioxydants naturels et elles restent encore sous exploitées dans le domaine médicale. Dans l'industrie pharmaceutique, sachant que les antioxydants sembleraient de manière significative à la prévention des maladies, le développement de nouveaux médicaments à base d'antioxydants d'origine naturelle doit être à l'ordre de jour.

L'importance des antioxydants (gingembre) dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates

**RÉFÉRENCES**

**BIBLIOGRAPHIQUES**



Références bibliographiques :

*A*

Acharya UR, Mishra M, Tripathy RR, Mishra I. Testicular dysfunction and antioxidative defense system of Swiss mice after chromic acid exposure. *Reprod Toxicol*, 2006 ; 22(1) : 87-91.

Aebi H. Catalase *in vitro*. *Methods Enzymol*, 1984 ; 105 : 121-6.

Afshari AT, Shirpoor A, Farshid A, Saadatian R, Rasmi Y, Saboory E, Ilkhanizadeh B, Allameh A. The effect of ginger on diabetic nephropathy, plasma antioxidant capacity and lipid peroxidation in rats. *Food Chem*, 2007 ; 101(1) : 148-53.

Ahmed RS, Suke SG, Seth V, Chakraborti A, Tripathi AK, Banerjee BD. Protective effects of dietary ginger (*Zingiber officinales* Rosc.) on lindane-induced oxidative stress in rats. *Phytother Res*, 2008 ; 22(7) : 902-6.

Ajith TA, Nivitha V, Usha S. *Zingiber officinale* Roscoe alone and in combination with alpha-tocopherol protect the kidney against cisplatin-induced acute renal failure. *Food Chem Toxicol*, 2007a ; 45(6) : 921-7.

Ajith TA, Hema U, Aswathy MS. *Zingiber officinale* Roscoe prevents acetaminophen-induced acute hepatotoxicity by enhancing hepatic antioxidant status. *Food Chem Toxicol*, 2007b ; 45(11) : 2267-72.

Akbas SH, Yegin A, Ozben T. Effect of pentylenetetrazol-induced epileptic seizure on the antioxidant enzyme activities, glutathione and lipid peroxidation levels in rat erythrocytes and liver tissues. *Clin Biochem*, 2005 ; 38(11) : 1009-14.

- Ali BH, Blunden G, Tanira MO, Nemmar A. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): a review of recent research. *Food Chem Toxicol*, 2008 ; 46(2) : 409-20.
- Al-Amin ZM, Thomson M, Al-Qattan KK, Peltonen-Shalaby R, Ali M. Anti-diabetic and hypolipidaemic properties of ginger (*Zingiber officinale*) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Br J Nutr*, 2006 ; 96(4) : 660-6.
- Amarnath Reddy Y, Chalamaiah M, Ramesh B, Balaji G, Indira P. Ameliorating activity of ginger (*Zingiber officinale*) extract against lead induced renal toxicity in male rats. *J Food Sci Technol*, 2011; 27 :1-7.
- Amin A, Hamza AA. Effects of Roselle and Ginger on cisplatin-induced reproductive toxicity in rats. *Asian J Androl*, 2006 ; 8(5) : 607-12.
- Anand SS. Protective effect of vitamin B6 in chromium-induced oxidative stress in liver. *J Appl Toxicol*, 2005 ; 25(5) : 440-3.
- Anderson RA. Chromium as an essential nutrient for humans. *Regul Toxicol Pharmacol*, 1997 ; 26(1) : S35-S41.
- Aouacheri W, Saka S, Djafer R. L'effet toxique d'un insecticide (alphaméthrine) sur l'activité du système enzymatique de détoxification du glutathion. *Ann Toxicol Anal*, 2009 ; 21(3) : 125-9.
- Appenroth D, Friedrich M, Friese KH, Bräunlich H. Chromate nephrotoxicity in developing rats. Significance of Cr (VI) reduction in rat kidney tissue. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis*, 1991 ; 5(1) : 53-7.
- Awe FB, Fagbemi TN, Ifesan BOT, Badejo AA. Antioxidant properties of cold and hot water extracts of cocoa, Hibiscus flower extract, and ginger beverage blends. *Food Res Int*, 2013 ; 52(2): 490-5.

## B

**Bagchi D, Hassoun EA, Bagchi M, Stohs SJ.** Chromium-induced excretion of urinary lipid metabolites, DNA damage, nitric oxide production, and generation of reactive oxygen species in Sprague-Dawley rats. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol*, 1995 ; 110(2) : 177-87.

**Bagchi D, Stohs SJ, Downs BW, Bagchi M, Preuss HG.** Cytotoxicity and oxidative mechanisms of different forms of chromium. *Toxicology*, 2002; 180(1): 5-22.

**Bandyopadhyay M, Chakraborty R, Raychaudhuri U.** A process for preparing a natural antioxidant enriched dairy product (Sandesh). *LWT*, 2007 ; 40(5) : 842-51.

**Barceloux DG.** Chromium. *J Toxicol Clin Toxicol*, 1999 ; 37(2) : 173-94.

**Barrera D, Maldonado PD, Medina-Campos ON, Hernández-Pando R, Ibarra-Rubio ME, Pedraza-Chaverri J.** Protective effect of SnCl<sub>2</sub> on K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>-induced nephrotoxicity in rats: the indispensability of HO-1 preinduction and lack of association with some antioxidant enzymes. *Life Sci*, 2003 ; 73(23) : 3027-41.

**Baruthio F.** Toxic effects of chromium and its compounds. *Biol Trace Elem Res*, 1992 ; 32 : 145-53.

**Bismuth C, Baud F, Conson F, Dally S, Fréjaville JP, Garnier R, Jaeger A.** Toxicology clinique, 5<sup>ème</sup> édition. Paris : Médecine-Sciences Flammarion, 2000.

**Boloorchi A, Sinna R, Benhaim T, Gobel F, Robbe M.** Chromic acid burns: systematic prevention of systemic toxicity. *Ann Chir Plast Esthet*, 2007 ; 52(6) : 621-3.

**Bonnefont-Rousselot D, Thérond P, Delattre J.** Radicaux libres et antioxydants. In : Delattre J, Durand G, Jardillier JC. Ed. *Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires*. Paris : Médecine-sciences Flammarion ; 2003 : 59-81.

**Boşgelmez II, Güvendik G.** Effects of taurine on oxidative stress parameters and chromium levels altered by acute hexavalent chromium exposure in mice kidney tissue. *Biol Trace Elem Res*, 2004 ; 102(1-3) : 209-25.

**Bradford MM.** A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 1976 ; 72 : 248-54.

**Bucolo G, David H.** Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. *Clin Chem*, 1973 ; 19(5) : 476-82.

## C

**Carocho M, Ferreira IC.** A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem Toxicol*, 2013 ; 51 : 15-25.

**Cervantes C, Campos-García J, Devars S, Gutiérrez-Corona F, Loza-Tavera H, Torres-Césarini JP.** Le sélénium: Actualités. John Libbey Eurotext, Paris, 2004.

**Chandra AK, Chatterjee A, Ghosh R, Sarkar M.** Vitamin E-supplementation protect chromium (VI)-induced spermatogenic and steroidogenic disorders in testicular tissues of rats. *Food Chem Toxicol*, 2010 ; 48(3) : 972-9.

**Charles DJ.** Ginger. In: Charles DJ. *Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources*. New York: Springer Science+Business Media ; 2013 : 335-45.

**Chaudhary SA, Gadhvi KV, Chaudhary AB.** Comprehensive review on world herb trade and most utilized medicinal plant. *Int J Appl Biol Pharmaceut Tech*, 2010 ; 1(2) : 510-7.

**Chen G, Liu P, Pattar GR, Tackett L, Bhonagiri P, Strawbridge AB, Elmendorf JS.** Chromium activates glucose transporter 4 trafficking and enhances insulin-stimulated glucose

transport in 3T3-L1 adipocytes via a cholesterol-dependent mechanism. *Mol Endocrinol*, 2006 ; 20(4) : 857-70.

**Chohan M, Forster-Wilkins G, Opara EI.** Determination of the antioxidant capacity of culinary herbs subjected to various cooking and storage processes using the ABTS(+) radical cation assay. *Plant Foods Hum Nutr*, 2008 ; 63(2) : 47-52.

**Chou S, Colman J, Tylenda C, De Rosa C.** Chemical-specific health consultation for chromated copper arsenate chemical mixture: port of Djibouti. *Toxicol Ind Health*, 2007 ; 23(4) : 183-208.

**Corrigan D.** *Zingiber Officinale. Adverse Effects of Herbal Drugs*, 1997 ; 3 : 215-28.

**Costa M.** Potential hazards of hexavalent chromate in our drinking water. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2003 ; 188(1) : 1-5.

**Guzmán JC, Moreno-Sánchez R.** Interactions of chromium with microorganisms and plants. *FEMS Microbiol Rev*, 2001 ; 25(3) : 335-47.

## D

**Davermann D, Martinez M, McKoy J, Patel N, Averbeck D, Moore CW.** Impaired mitochondrial function protects against free radical-mediated cell death. *Free Radic Biol Med*, 2002 ; 33(9) : 1209-20.

**Deaton CHM, Marlin DJ.** Exercise-associated oxidative stress. *Clin Tech Equine Pract*, 2003 ; 2(3) : 278-91.

**Dröge W.** Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*, 2002 ; 82(1) : 47-95.

**Ducros V, Favier A.** Métabolisme du sélénium. *EMC Endocrinol*, 2004 ; 1(1) : 19-28.

Dugasani S, Pichika MR, Nadarajah VD, Balijepalli MK, Tandra S, Korlakunta JN. Comparative antioxidant and anti-inflammatory effects of [6]-gingerol, [8]-gingerol, [10]-gingerol and [6]-shogaol. *J Ethnopharmacol*, 2010 3 ; 127(2) : 515-20.

## *F*

Ece A, Gürkan F, Celik F, Boşnak M, Yel S, Balik H, Erel O. Paraoxonase, total antioxidant activity and peroxide levels in marasmic children: relationships with leptin. *Clin Biochem*, 2007 ; 40(9-10) : 634-9.

Eddouks M, Ouahidi ML, Farid O, Moufid A, Khalidi A, Lemhadri A. L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie*, 2007 ; 5(4) : 194-203.

Eisenberg DM, Kessler RC, Foster C, Norlock FE, Calkins DR, Delbanco TL. Unconventional medicine in the United States. Prevalence, costs, and patterns of use. *N Engl J Med*, 1993 ; 328(4) : 246-52.

El-Demerdash FM, Yousef MI, Elaswad FA. Biochemical study on the protective role of folic acid in rabbits treated with chromium (VI). *J Environ Sci Health B*, 2006 ; 41(5) : 731-46.

El-Sharaky AS, Newairy AA, Kamel MA, Eweda SM. Protective effect of ginger extract against bromobenzene-induced hepatotoxicity in male rats. *Food Chem Toxicol*, 2009 ; 47(7) : 1584-90.

Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem*, 2004 ; 37(2) : 112-9.

Evans WC. Trease and Evans' pharmacognosy, 16<sup>ème</sup> édition. Oxford: Saunders Limited, 2009.

## F

Faivre Cl, Lejeune R, Staub H, Goetz P. *Zingiber officinale* Roscoe. *Phytothérapie*, 2006 ; 4(2) : 99-102.

Farag AGA, Elhalwagy MEA, Farid HEA. Effect of ginger supplementation on developmental toxicity induced by fenitrothion insecticide and/or lead in albino rats. *Pestic Biochem Physiol*, 2010 ; 97(3) : 267-74.

Farnsworth NR, Akerele O, Bingel AS, Soejarto DD, Guo Z. Medicinal plants in therapy. *Bull World Health Organ*, 1985 ; 63(6) : 965-81.

Fatima S, Mahmood R. Vitamin C attenuates potassium dichromate-induced nephrotoxicity and alterations in renal brush border membrane enzymes and phosphate transport in rats. *Clin Chim Acta*, 2007 ; 386(1-2) : 94-9.

Favier A. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité Chimique*, 2003 ; 108-15.

Favier A. Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann Biol Clin*, 2006 ; 64(6) : 390-6.

Flohé L, Günzler WA. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol*, 1984 ; 105 : 114-21.

Frank A, Danielsson R, Jones B. Experimental copper and chromium deficiency and additional molybdenum supplementation in goats. II. Concentrations of trace and minor elements in liver, kidneys and ribs: haematology and clinical chemistry. *Sci Total Environ*, 2000 ; 249(1-3) : 143-70.

Freund H, Atamian S, Fischer JE. Chromium deficiency during total parenteral nutrition. *JAMA*, 1979 ; 241(5) : 496-8.

**Fuhrman B, Rosenblat M, Hayek T, Coleman R, Aviram M.** Ginger extract consumption reduces plasma cholesterol, inhibits LDL oxidation and attenuates development of atherosclerosis in atherosclerotic, apolipoprotein E-deficient mice. *J Nutr*; 2000 ; 130(5) : 1124-31.

**Fusco D, Colloca G, Lo Monaco MR, Cesari M.** Effects of antioxidant supplementation on the aging process. *Clin Interv Aging*, 2007 ; 2(3) : 377-87.

## G

**Galleano M, Verstraeten SV, Oteiza PI, Fraga CG.** Antioxidant actions of flavonoids: thermodynamic and kinetic analysis. *Arch Biochem Biophys*, 2010 ; 501(1) : 23-30.

**Geetha S, Sai Ram M, Mongia SS, Singh V, Ilavazhagan G, Sawhney RC.** Evaluation of antioxidant activity of leaf extract of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) on chromium (VI) induced oxidative stress in albino rats. *J Ethnopharmacol*, 2003 ; 87(2-3) : 247-51.

**Gigon F.** Le gingembre, une épice contre la nausée. *Phytothérapie*, 2012 ; 10(2) :87-91.

**Goudable J1, Favier A.** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutr Clin Métabol*, 1997 ; 11(2) : 115-20.

**Grzanna R, Lindmark L, Frondoza CG.** Ginger: An herbal medicinal product with broad anti-inflammatory actions. *J Med Food*, 2005 ; 8(2) : 125-32.

**Gülçin İ, Huyutb Z, Elmastaşç M, Y. Aboul-Enein H.** Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian J Chem*, 2010 ; 3(1) : 43-53.

**Gunaratnam M, Grant MH.** The role of glutathione reductase in the cytotoxicity of chromium (VI) in isolated rat hepatocytes. *Chem Biol Interact*, 2001 ; 134(2) : 191-202.



**Gunaratnam M, Grant MH.** Cr (VI) inhibits DNA, RNA and protein syntheses in hepatocytes. involvement of glutathione reductase, reduced glutathione and DT-diaphorase. *Toxicol In Vitro*, 2008 ; 22(4) : 879-86.

**Gutteridge JM.** Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*, 1995 ; 41(12 Pt 2) :1819-28.

**Gutteridge JM, Mitchell J.** Redox imbalance in the critically ill. *Br Med Bull*, 1999 ; 55(1) : 49-75.

**Guttmann D, Poage G, Johnston T, Zhitkovich A.** Reduction with glutathione is a weakly mutagenic pathway in chromium (VI) metabolism. *Chem Res Toxicol*, 2008 ; 21(11) : 2188-94.

## H

**Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB.** Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*, 1974 ; 249(22) : 7130-9.

**Haksar A, Sharma A, Chawla R, Kumar R, Arora R, Singh S, Prasad J, Gupta M, Tripathi RP, Arora MP, Islam F, Sharma RK.** *Zingiber officinale* exhibits behavioral radioprotection against radiation-induced CTA in a gender-specific manner. *Pharmacol Biochem Behav*, 2006 ; 84(2) : 179-88.

**Han LK, Gong XJ, Kawano S, Saito M, Kimura Y, Okuda H.** Antiobesity actions of *Zingiber officinale* Roscoe. *Yakugaku Zasshi*, 2005 ; 125(2) : 213-7.

**Heeba GH, Abd-Elghany MI.** Effect of combined administration of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and atorvastatin on the liver of rats. *Phytomedicine*, 2010 ; 17(14) : 1076-81.

Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem*, 2002 ; 13(10) : 572-84.

Heo HJ, Kim YJ, Chung D, Kim DO. Antioxidant Capacities of Individual and Combined Phenolics in a Model System. *Food Chem*, 2007 ; 104(1) : 87-92.

Holland SL, Avery SV. Actin-mediated endocytosis limits intracellular Cr accumulation and Cr toxicity during chromate stress. *Toxicol Sci*, 2009 ; 111(2) : 437-46.

Horvath EM, Tackett L, McCarthy AM, Raman P, Brozinick JT, Elmendorf JS. Antidiabetogenic effects of chromium mitigate hyperinsulinemia-induced cellular insulin resistance via correction of plasma membrane cholesterol imbalance. *Mol Endocrinol*, 2008 ; 22(4) : 937-50.

Houlot R. Techniques d'histologie et de cytologie. Paris : Edition Maloine, 1984.

Huang SH, Peng B, Yang Z, Chai L, Zhou L. Chromium accumulation, microorganism population and enzyme activities in soils around chromium-containing slag heap of steel alloy factory. *Trans Nonferrous Met Soc China*, 2009 ; 19 : 241-8.

## J

Jagetia GC, Baliga MS, Venkatesh P, Ulloor JN. Influence of ginger rhizome (*Zingiber officinale* Rosc) on survival, glutathione and lipid peroxidation in mice after whole-body exposure to gamma radiation. *Radiat Res*, 2003 ; 160(5) : 584-92.

Jiang H, Xie Z, Koo HJ, McLaughlin SP, Timmermann BN, Gang DR. Metabolic profiling and phylogenetic analysis of medicinal *Zingiber* species: Tools for authentication of ginger (*Zingiber officinale* Rosc). *Phytochemistry*, 2006 ; 67(15) : 1673-85.

**Jittiwat J, Wattanathorn J.** Ginger pharmacopuncture improves cognitive impairment and oxidative stress following cerebral ischemia. *J Acupunct Meridian Stud*, 2012 ; 5(6) : 295-300.

**Jomova K, Valko M.** Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*, 2011 ; 283(2-3) : 65-87.

## K

**Kaczor JJ, Ziolkowski W, Popinigis J, Tarnopolsky MA.** Anaerobic and aerobic enzyme activities in human skeletal muscle from children and adults. *Pediatr Res*, 2005 ; 57(3) : 331-5.

**Kalayarasan S, Sriram N, Sureshkumar A, Sudhandiran G.** Chromium (VI)-induced oxidative stress and apoptosis is reduced by garlic and its derivative S-allylcysteine through the activation of Nrf2 in the hepatocytes of Wistar rats. *J Appl Toxicol*, 2008 ; 28(7) : 908-19.

**Kaplan LA.** Urea. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*. St Louis. Toronto. Princeton : The C. V. Mosby Company ; 1984 : 1257-60.

**Kaplan LA, Rubaltelli FF, Hammerman C, Vilei MT, Leiter C, Abramov A.** Lipids. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*. St Louis. Toronto. Princeton : The C. V. Mosby Company ; 1984a ; 918-9.

**Kaplan LA, Rubaltelli FF, Hammerman C, Vilei MT, Leiter C, Abramov A.** Bilirubin. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*. St Louis. Toronto. Princeton : The C. V. Mosby Company ; 1984b ; 1238-41.

**Kegley EB, Spears JW, Eisemann JH.** Performance and glucose metabolism in calves fed a chromium-nicotinic acid complex or chromium chloride. *J Dairy Sci*, 1997 ; 80(8) : 1744-50.

Kikuzaki, H., Nakatani, N. Antioxidant effect of some ginger constituents. *J Food Sci*, 1993 ; 58(6) : 1407–10.

Kim JK, Kim Y, Na KM, Surh YJ, Kim TY. [6]-Gingerol prevents UVB-induced ROS production and COX-2 expression in vitro and in vivo. *Free Radic Res*, 2007 ; 41(5) : 603–14.

Koechlin-Ramonatxo C. Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutr Clin Metab*, 2006 ; 20(4) : 165–77.

Kota N, Krishna P, Polasa K. Alterations in antioxidant status of rats following intake of ginger through diet. *Food Chem*, 2008 ; 106(3) : 991–6.

Kotaś J, Stasicka Z. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation. *Environ Pollut*, 2000 ; 107(3) : 263–83.

Król E, Krejpcio Z. Evaluation of anti-diabetic potential of chromium (III) propionate complex in high-fat diet fed and STZ injected rats. *Food Chem Toxicol*, 2011 ; 49(12) : 3217–23.

Kuo HW, Wu ML. Effects of chromic acid exposure on immunological parameters among electroplating workers. *Int Arch Occup Environ Health*, 2002 ; 75(3) : 186–90.

## L

Laguerre M, Lecomte J, Villeneuve P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: existing methods, new trends and challenges. *Prog Lipid Res*, 2007 ; 46(5) : 244–82.

Lalaoui A, Henderson C, Kupper C, Grant MH. The interaction of chromium (VI) with macrophages: depletion of glutathione and inhibition of glutathione reductase. *Toxicology*, 2007 ; 236(1-2) : 76-81.

Langner E, Greifenberg S, Gruenwald J. Ginger: history and use. *Adv Ther*, 1998 ; 15(1) : 25-44.

Lemańska K, Szymusiak H, Tyrakowska B, Zieliński R, Soffers AE, Rietjens IM. The influence of pH on antioxidant properties and the mechanism of antioxidant action of hydroxyflavones. *Free Radic Biol Med*, 2001 ; 31(7) : 869-81.

Lilien DL, Spivak JL, Goldman ID. Chromate transport in human leukocytes. *J Clin Invest*, 1970 ; 49(8) : 1551-7.

Losi ME, Amrhein C, Frankenberger WT. Environmental biochemistry of chromium. *Rev Environ Contam Toxicol*, 1994 ; 136 : 91-121.

## M

Mader SS. Biologie humaine, 1<sup>ère</sup> édition. Bruxelles: De Boek, 2010.

Mallikarjuna K, Sahitya Chetan P, Sathyavelu Reddy K, Rajendra W. Ethanol toxicity: rehabilitation of hepatic antioxidant defense system with dietary ginger. *Fitoterapia*, 2008 ; 79(3) : 174-8.

Masaki H. Role of antioxidants in the skin: anti-aging effects. *J Dermatol Sci*, 2010 ; 58(2) : 85-90.

Masuda Y, Kikuzaki H, Hisamoto M, Nakatani N. Antioxidant properties of gingerol related compounds from ginger. *Biofactors*, 2004 ; 21(1-4) : 293-6

Matés JM, Pérez-Gómez C, Núñez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*, 1999 ; 32(8) : 595-603.

- Matés JM.** Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 2000 ; 153(1-3) : 83-104.
- Matey P, Allison KP, Sheehan TM, Gowar JP.** Chromic acid burns: early aggressive excision is the best method to prevent systemic toxicity. *J Burn Care Rehabil*, 2000 ; 21(3) : 241-5.
- Medina-Navarro R, Durán-Reyes G, Díaz-Flores M, Vilar-Rojas C.** Protein Antioxidant Response to the Stress and the Relationship between Molecular Structure and Antioxidant Function. *PLoS ONE*, 2010 ; 5(1) : e8971.
- Mertz W.** Chromium occurrence and function in biological systems. *Physiol Rev*, 1969 ; 49(2) : 163-239.
- Minaiyan M, Ghannadi A, Karimzadeh A.** Anti-ulcerogenic effect of ginger (rhizome of *Zingiber Officinale* Roscoe) on cysteine induced duodenal ulcer in rats. *DARU*, 2006 ; 14(2) : 97-101.
- Misra DS, Maiti R, Ghosh D.** Protection of swimming-induced oxidative stress in some vital organs by the treatment of composite extract of *Withania Somnifera*, *Ocimum Sanctum* and *Zingiber Officinale* in male rat. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2009 ; 6(4) : 534-43.
- Murray RL.** Creatinine. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*. St Louis. Toronto. Princeton : The C. V. Mosby Company ; 1984a ; 1261-6.
- Murray RL.** Aspartate aminotransferase. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*. St Louis. Toronto. Princeton : The C. V. Mosby Company ; 1984b ; 1112-116.
- Murray RL.** Alanine aminotransferase. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*. St Louis. Toronto. Princeton : The C. V. Mosby Company ; 1984c ; 1088-90.

Myers CR. The effects of chromium (VI) on the thioredoxin system: implications for redox regulation. *Free Radic Biol Med*, 2012 ; 52(10) : 2091-107.

## N

Nair S, Nagar R, Gupta R. Antioxidant phenolics and flavonoids in common Indian foods. *J Assoc Physicians India*, 1998 ; 46(8) : 708-10.

Naito HK. Cholesterol. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*. St Louis. Toronto. Princeton : The C. V. Mosby Company ; 1984 ; 1194-11206 .

Navarro-Alarcón M, López-Martínez MC. Essentiality of selenium in the human body: relationship with different diseases. *Sci Total Environ*, 2000 ; 249(1-3) : 347-71.

Nudler SI, Quinteros FA, Miler EA, Cabilla JP, Ronchetti SA, Duvilanski BH. Chromium VI administration induces oxidative stress in hypothalamus and anterior pituitary gland from male rats. *Toxicol Lett*, 2009 ; 185(3) : 187-92.

## O

Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 1979 ; 95(2) : 351-8.

Oliveira H, Spanò M, Guevara MA, Santos TM, Santos C, Pereira Mde L. Evaluation of in vivo reproductive toxicity of potassium chromate in male mice. *Exp Toxicol Pathol*, 2010 ; 62(4) : 391-404.

O'Brien TJ, Ceryak S, Patierno SR. Complexities of chromium carcinogenesis: role of cellular response, repair and recovery mechanisms. *Mutat Res*, 2003 ; 533(1-2) : 3-36.

## P

**Palozza P, Simone R, Picci N, Buzzoni L, Ciliberti N, Natangelo A, Manfredini S, Vertuani S.** Design, synthesis, and antioxidant potency of novel alpha-tocopherol analogues in isolated membranes and intact cells. *Free Radic Biol Med*, 2008 ; 44(7) : 1452-64.

**Parveen K, Khan MR, Siddiqui WA.** Pycnogenol prevents potassium dichromate K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>-induced oxidative damage and nephrotoxicity in rats. *Chem Biol Interact*, 2009 ; 181(3) : 343-50.

**Pattar GR, Tackett L, Liu P, Elmendorf JS.** Chromium picolinate positively influences the glucose transporter system via affecting cholesterol homeostasis in adipocytes cultured under hyperglycemic diabetic conditions. *Mutat Res*, 2006 ; 610(1-2) : 93-100.

**Pedraza-Chaverri J, Barrera D, Medina-Campos ON, Carvajal RC, Hernández-Pando R, Macías-Ruvalcaba NA, Maldonado PD, Salcedo MI, Tapia E, Saldivar L, Castilla ME, Ibarra-Rubio ME.** Time course study of oxidative and nitrosative stress and antioxidant enzymes in K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>-induced nephrotoxicity. *BMC Nephrol*, 2005 ; 6 : 4.

**Pedraza-Chaverri J, Yam-Canul P, Chirino YI, Sánchez-González DJ, Martínez-Martínez CM, Cruz C, Medina-Campos ON.** Protective effects of garlic powder against potassium dichromate-induced oxidative stress and nephrotoxicity. *Food Chem Toxicol*, 2008 ; 46(2) : 619-27.

**Pérez-Jiménez J, Arranza S, Tabereroa M, Díaz-Rubioa ME, Serranob J, Goñib I, Saura-Calixto F.** Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Res Int*, 2008 ; 41(3) : 274-85.



**Pesce AJ.** Lactate dehydrogenase. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*. St Louis. Toronto. Princeton : The C. V. Mosby Company ; 1984 ; 1124-117.

**Pigeolet E, Corbisier P, Houbion A, Lambert D, Michiels C, Raes M, Zachary MD, Remacle J.** Glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and catalase inactivation by peroxides and oxygen derived free radicals. *Mech Ageing Dev*, 1990 ; 51(3) : 283-97.

**Polyakov NE, Leshina TV, Salakhutdinov NF, Konovalova TA, Kispert LD.** Antioxidant and redox properties of supramolecular complexes of carotenoids with beta-glycyrrhizic acid. *Free Radic Biol Med*, 2006 ; 40(10) : 1804-9.

**Pourahmad J, Rabiei M, Jokar F, O'Brien PJ.** A comparison of hepatocyte cytotoxic mechanisms for chromate and arsenite. *Toxicology*, 2005 ; 206(3) : 449-60.

**Prior RL, Cao G.** In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radic Biol Med*, 1999 ; 27(11-12) : 1173-81.

**Poey J, Philibert C.** Toxicité des métaux. *Revue Francaise des Laboratoires*, 2000 ; 2000(323) : 35-43.

## Q

**Quinteros FA, Poliandri AH, Machiavelli LI, Cabilla JP, Duvilanski BH.** In vivo and in vitro effects of chromium VI on anterior pituitary hormone release and cell viability. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2007 ; 218(1) : 79-87.

## R

- Rababah TM, Hettiarachchy NS, Horax R.** Total phenolics and antioxidant activities of fenugreek, green tea, black tea, grape seed, ginger, rosemary, gotu kola, and ginkgo extracts, vitamin E, and tert-butylhydroquinone. *J Agric Food Chem*, 2004 ; 52(16) : 5183-6.
- Rahman K.** Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging*, 2007 ; 2(2) : 219-36.
- Ramakrishna Rao R, Platel K, Srinivasan K.** In vitro influence of spices and spice-active principles on digestive enzymes of rat pancreas and small intestine. *Nahrung*, 2003 ; 47(6) : 408-12.
- Ramudu SK, Korivi M, Kesireddy N, Chen CY, Kuo CH, Kesireddy SR.** Ginger feeding protects against renal oxidative damage caused by alcohol consumption in rats. *J Ren Nutr*, 2011 ; 21(3) : 263-70.
- Rao AV, Rao LG.** Carotenoids and human health. *Pharmacol Res* 2007; 55(3): 207-16.
- Reilly C.** Selenium in food and health, 2<sup>ème</sup> edition. New York: Springer, 2006.
- Robson M.** Methodologies for assessing exposures to metals: human host factors. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2003 ; 56(1) : 104-9.
- Romão1, Tovar J, Fonseca SG, Moraes RH, Cruz AK, Hothersall JS, Noronha-Dutra AA, Ferreira SH, Cunha FQ.** Glutathione and the redox control system trypanothione /trypanothione reductase are involved in the protection of *Leishmania* spp. against nitrosothiol-induced cytotoxicity *Braz J Med Biol Res*, 2006 ; 39(3) : 355-363.
- Rong X, Peng G, Suzuki T, Yang Q, Yamahara J, Li Y.** A 35-day gavage safety assessment of ginger in rats. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2009 ; 54(2) :118-23

**Roussel AM.** Chrome et syndrome métabolique. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 2009 ; 3(5) : 483-5.

**Rudolf E, Cervinka M.** The role of intracellular zinc in chromium (VI)-induced oxidative stress, DNA damage and apoptosis. *Chem Biol Interact*, 2006 ; 162(3) : 212-27.

## S

**Sahin K, Onderci M, Tuzcu M, Ustundag B, Cikim G, Ozercan IH, Sriramoju V, Juturu V, Komorowski JR.** Effect of chromium on carbohydrate and lipid metabolism in a rat model of type 2 diabetes mellitus: the fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism*, 2007 ; 56(9) : 1233-40.

**Saka S, Aouacheri W, Abdennour C.** The capacity of glutathione reductase in cell protection from the toxic effect of heated oils. *Biochimie*, 2002 ; 84 : 661-5.

**Scheibmeir HD, Christensen K, Whitaker SH, Jegaethesan J, Clancy R, Pierce JD.** A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intensive Crit Care Nurs*, 2005 ; 21(1) : 24-8.

**Schlorff EC, Husain K, Somani SM.** Dose- and time-dependent effects of ethanol on plasma antioxidant system in rat. *Alcohol*, 1999 ; 17(2) : 97-105.

**Schultz A.** Uric acid. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*. St Louis. Toronto. Princeton : The C. V. Mosby Company ; 1984 ; 1261-6 .

**Scibior A, Zaporowska H, Ostrowski J, Banach A.** Combined effect of vanadium(V) and chromium(III) on lipid peroxidation in liver and kidney of rats. *Chem Biol Interact*, 2006 ; 159(3) : 213-22.

Serdar Z, Aslan K, Dirican M, Sarandöl E, Yeşilbursa D, Serdar A. Lipid and protein oxidation and antioxidant status in patients with angiographically proven coronary artery disease. *Clin Biochem*, 2006 ; 39(8) : 794-803.

Shanker AK, Cervantes C, Loza-Tavera H, Avudainayagam S. Chromium toxicity in plants. *Environ Int*, 2005 ; 31(5) : 739-53.

Shanker, A.K., Venkateswarlu, B. Chromium. Environmental pollution, health effects and mode of action. *Encyclopedia Environ Health*, 2011 : 650-9.

Shanmugam KR, Mallikarjuna K, Kesireddy N, Sathyavelu Reddy K. Neuroprotective effect of ginger on anti-oxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food Chem Toxicol*, 2011 ; 49(4) : 893-7.

Shati AA, Elsaid FG. Effects of water extracts of thyme (*Thymus vulgaris*) and ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on alcohol abuse. *Food Chem Toxicol*, 2009 ; 47(8) : 1 945-9.

Shi H, Hudson LG, Liu KJ. Oxidative stress and apoptosis in metal ion-induced carcinogenesis. *Free Radic Biol Med*, 2004 ; 37(5) : 582-93.

Shi X, Chiu A, Chen CT, Halliwell B, Castranova V, Vallyathan V. Reduction of chromium (VI) and its relationship to carcinogenesis. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*, 1999 ; 2 : 87-104.

Shimoda H, Shan SJ, Tanaka J, Seki A, Seo JW, Kasajima N, Tamura S, Ke Y, Murakami N. Anti-inflammatory properties of red ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) extract and suppression of nitric oxide production by its constituents. *J Med Food*, 2010 ; 13(1) :156-62.

Shinde UA, Goyal RK. Effect of chromium picolinate on histopathological alterations in STZ and neonatal STZ diabetic rats. *J Cell Mol Med*, 2003 ; 7(3) : 322-9.

Shinde UA, Sharma G, Xu Yan J, Dhalla Naranjan S, Goyal Ramesh K. Anti-diabetic activity and mechanism of action of chromium chloride. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2004 ; 112(5) : 248-52.

Sies H. Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radic Biol Med*, 1999 ; 27(9-10) : 916-21.

Siddaraju MN, Dharmesh SM. Inhibition of gastric H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase and Helicobacter pylori growth by phenolic antioxidants of Zingiber officinale. *Mol Nutr Food Res*, 2007 ; 51(3) : 324-32.

Singh G, Kapoor IP, Singh PK, de Heluani CS, de Lampasona MP, Catalan CA. Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. *Food Chem Toxicol*, 2008 ; 46(10) : 3295-302.

Singh PK, Kaur IP. Synbiotic (probiotic and ginger extract) loaded floating beads: a novel therapeutic option in an experimental paradigm of gastric ulcer. *J Pharm Pharmacol*, 2012 ; 64(2) : 207-17.

Solis-Heredia MJ, Quintanilla-Vega B, Sierra-Santoyo A, Hernández JM, Brambila E, Cebrián ME, Albores A. Chromium increases pancreatic metallothionein in the rat. *Toxicology*, 2000 ; 142(2) : 111-7.

Soudani N, Sefi M, Ben Amara I, Boudawara T, Zeghal N. Protective effects of Selenium (Se) on Chromium (VI) induced nephrotoxicity in adult rats. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2010 ; 73(4) : 671-8.

Soudani N, Ben Amara I, Sefi M, Boudawara T, Zeghal N. Effects of selenium on chromium (VI)-induced hepatotoxicity in adult rats. *Exp Toxicol Pathol*, 2011b ; 63(6) : 541-8.

Soudani N, Troudi A, Bouaziz H, Ben Amara I, Boudawara T, Zeghal N. Cardioprotective effects of selenium on chromium (VI)-induced toxicity in female rats. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2011a ; 74(3) : 513-20.

Sreekanth R, Pattabhi V, Rajan SS. Molecular basis of chromium insulin interactions. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008 ; 369(2) : 725-9.

Stahl W, Sies H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochim Biophys Acta*, 2005 ; 1740(2): 101-7.

Staniek H, Krejpcio Z, Iwanik K. Evaluation of the acute oral toxicity class of tricentric chromium (III) propionate complex in rat. *Food Chem Toxicol*, 2010 ; 48(3) : 859-64.

Stehbens WE. Oxidative stress, toxic hepatitis, and antioxidants with particular emphasis on zinc. *Exp Mol Pathol*, 2003 ; 75(3) : 265-76.

Stoilova I, Krastanov A, Stoyanova A, Denev P, Gargova S. Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*). *Food Chem*, 2007 ; 102(3) : 764-70.

Sugiyama M. Role of physiological antioxidants in chromium (VI) induced cellular injury. *Free Radic Biol Med*, 1992 ; 12 : 397-407.

Suresh Kumar K., Ganesan K., Subba Rao PV. Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty—An edible seaweed. *Food Chem*, 2008 ; 107(1) : 289-95.

## T

Terrill PJ, Gowar JP. Chromic acid burns; beware, be aggressive, be watchful. *Br J Plast Surg*, 1990; 43(6): 699-701.

Thomson M, Al-Qattan KK, Al-Sawan SM, Alnaqeeb MA, Khan I, Ali M. The use of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) as a potential anti-inflammatory and antithrombotic agent. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2002 ; 67(6) : 475-8.

Tiwari KK, Dwivedi S, Singh NK, Rai UN, Tripathi RD. Chromium (VI) induced phytotoxicity and oxidative stress in pea (*Pisum sativum* L.): biochemical changes and translocation of essential nutrients. *J Environ Biol*, 2009 ; 30(3) : 389-94.

Traber MG, Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med*, 2007 ; 43(1) : 4-15.

Travacio M, Polo JM, Llesuy S. Chromium (VI) induces oxidative stress in the mouse brain. *Toxicology*, 2001 ; 150(1-3) : 137-46.

## U

Upreti KK, Das M, Kuman A, Singh GB, Khanna SK. Biochemical toxicology of argemone oil. IV: Short-term oral feeding response in rats. *Toxicology*, 1989 ; 58 : 285-9.

## V

Vaiopoulou E, Gikas P. Effects of chromium on activated sludge and on the performance of wastewater treatment plants: A review. *Water Res*, 2012 ; 46(3) : 549-70.

Van Stijn MF, Ligthart-Melis GC, Boelens PG, Scheffer PG, Teerlink T, Twisk JW, Houdijk AP, Van Leeuwen PA. Antioxidant enriched enteral nutrition and oxidative stress after major gastrointestinal tract surgery. *World J Gastroenterol*, 2008 ; 14(45) : 6960-9.

Ratnam VD, Ankola DD, Bhardwaj V, Sahana DK, Ravi Kumar MNV. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *J Control Release*, 2006 ; 113(3) : 189-207.

Verhage AH, Cheong WK, Jeejeebhoy KN. Neurologic symptoms due to possible chromium deficiency in long-term parenteral nutrition that closely mimic metronidazole-induced syndromes. *JPENJ Parenter Enteral Nutr*, 1996 ; 20(2) : 123-7.

Verma SK, Singh M, Jain P, Bordia A. Protective effect of ginger, *Zingiber officinale* Rosc on experimental atherosclerosis in rabbits. *Indian J Exp Biol*, 2004 ; 42(7) : 736-8.

Viala A. Eléments de toxicologie. Paris: Tec & Doc Lavoisier, 1998.

Viala A, Botta A. Toxicologie, 2<sup>ème</sup> édition. Paris: Tec & Doc, 2005.

Vincent JB. The bioinorganic chemistry of chromium (III). *Polyhedron* 2001; 20(1-2): 1-26.

## W

Wang ZQ, Zhang XH, Russell JC, Hulver M, Cefalu WT. Chromium picolinate enhances skeletal muscle cellular insulin signaling in vivo in obese, insulin-resistant JCR:LA-cp rats. *J Nutr*; 2006 ; 136(2) : 415-20.

Weckbecker G, Cory JG. Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione depended mouse leukaemia L 1210 cells n vitro. *Cancer Lett*, 1988 ; 40 : 257-64.

Wenger C. Alkaline phosphatase. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*. St Louis. Toronto. Princeton : The C. V. Mosby Company ; 1984 ; 1094-8.

Wilson R, Haniadka R, Sandhya P, Palatty PL, Baliga MS. Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) the Dietary Agent in Skin Care: A Review. In: Watson RR and Zibadi S. Eds. *Bioactive Dietary Factors and Plant Extracts in Dermatology. Nutrition and Health*. New York : Springer Science+Business Media ; 2013 : 103-11.

Wohlmuth H, Leach DN, Smith MK, Myers SP. Gingerol content of diploid and tetraploid clones of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *J Agric Food Chem*, 2005 ; 53(14) : 5772-8.



## X

Xu XR, Li HB, Gu JD, Li XY. Kinetics of the reduction of chromium (VI) by vitamin C. *Environ Toxicol Chem*, 2005 ; 24(6) : 1310-4.

## Y

Yang X, Palanichamy K, Ontko AC, Rao MN, Fang CX, Ren J, Sreejayan N. A newly synthetic chromium complex—chromium (phenylalanine)<sub>3</sub> improves insulin responsiveness and reduces whole body glucose tolerance. *FEBS Lett*, 2005 ; 579(6) : 1458-64.

Yemitan OK, Izebu MC. Protective effects of *Zingiber officinale* (Zingiberaceae) against carbon tetrachloride and acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Phytother Res*, 2006 ; 20(11) : 997-1002.

Yoshimoto S, Sakamoto K, Wakabayashi I, Masui H. Effect of chromium administration on glucose tolerance in stroke-prone spontaneously hypertensive rats with streptozotocin-induced diabetes. *Metabolism*, 1992 ; 41(6) : 636-42.

Young HY, Luo YL, Cheng HY, Hsieh WC, Liao JC, Peng WH. Analgesic and anti-inflammatory activities of [6]-gingerol. *J Ethnopharmacol*, 2005 ; 96(1-2) : 207-10.

## Z

Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med*, 2002 ; 33(3) : 337-49.

Zhao L, Fei D, Dang Y, Zhou X, Xiao J. Studies on the extraction of chromium (III) by emulsion liquid membrane. *J Hazard Mater*, 2010 ; 178(1-3) : 130-5.

Zhao P, Wang J, Ma H, Xiao Y, He L, Tong C, Wang Z, Zheng Q, Dolence EK, Nair S, Ren J, Li J. A newly synthetic chromium complex-chromium (D-phenylalanine) 3 activates AMP-activated protein kinase and stimulates glucose transport. *Biochem Pharmacol*, 2009 ; 77(6) : 1002-10.

L'importance des antioxydants (gingembre) dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates

# ANNEXES

## ❖ Préparation des solutions :

### 1. Dosage du glutathion (GSH) :

- Solution EDTA (0,02 M) :

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

- Solution DTNB (0,01 M) :

Dissoudre 200 mg DTNB dans 50 mL de méthanol absolu.

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

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

### 2. Dosage des protéines :

- Solution BSA (1 mg/mL) :

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

- Réactif de Bradford :

Dissoudre 100 mg de bleu de Coomassie (G 250) dans 50 mL d'éthanol (95 %). Agiter par l'agitateur pendant 2 heures, puis ajouter 100 mL d'acide orthophosphorique (85 %) et 850 ml d'eau distillée (pour obtenir 1 L de solution).

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

### 3. Dosage du malondialdéhyde (MDA) :

- Solution TCA (20 %) :

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

- Solution Tris :

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

- Solution TBA (0,67 %) :

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

#### 4. Dosage de la glutathion peroxydase (GPx) :

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

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

- Solution du GSH (0.1 mM) :

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

- Solution TCA (1 %) :

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

- Solution DTNB (1,0 mM) :

Dissoudre 100 mg DTNB dans 250 mL de méthanol absolu.

#### 5. Dosage de la glutathion-S-transférase (GST) :

- Solution CDBN (0,02 M) :

Dissoudre 202,55 mg CDBN dans 50 mL d'éthanol absolu.

- Solution GSH (0,1 M) :

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

#### 6. Dosage de la catalase (CAT) :

- Tampon phosphate (0,1 M) :

Solution (A) : dissoudre 35,8 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  dans 1 L d'eau distillée

Solution (B) : dissoudre 13,8 g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  dans 1L d'eau distillée

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

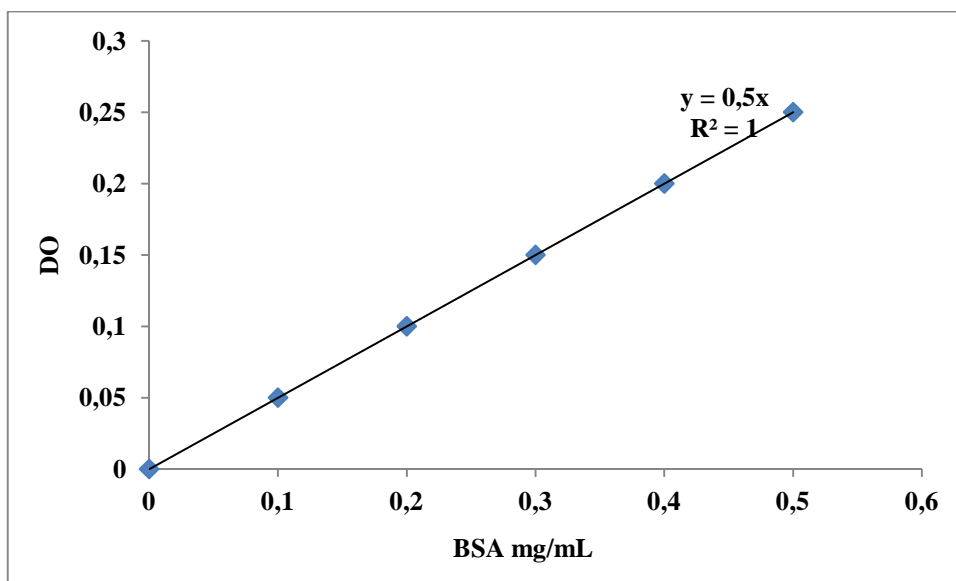
## 7. Préparation du Bouin alcoolique (100 ml) :

Mélanger :

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

### ❖ Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines :

BSA (mL)	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
DO à 595 nm	0	0,05	0,1	0,15	0,20	0,25



❖ Réalisation de la gamme d'étalonnage du MDA

1,1,3,3-tetraoxypropane (mL)	0	20	40	80	160	200
DO à 530 nm	0	0.111	0.2	0.4	0.743	0.935

